

UNIVERSIDADE DE LISBOA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA E BIOQUÍMICA



**Desenvolvimento e produção de um medicamento. Da  
abordagem da síntese laboratorial ao processo industrial**

David Silva Rodrigues Alves

**Mestrado em Química Tecnológica**

Dissertação orientada por:  
Doutora Tânia Morais  
Dra. Marta Pereira

**2017**

## **Agradecimentos**

Agradeço à Doutora Tânia Morais o apoio, a disponibilidade e a confiança depositada no decorrer de todo o meu percurso académico.

À Professora Doutora Maria Helena Garcia agradeço toda a sua colaboração e motivação, que sempre foram um grande incentivo para finalizar este trabalho.

Agradeço à Dra. Marta Pereira toda a orientação prestada, disponibilidade e simpatia, que ao longo do meu estágio foi sendo uma mais-valia para conseguir alargar os meus conhecimentos.

Agradeço à Dra. Ana Baptista a oportunidade dada para a realização do estágio, na empresa Iberfar, Indústria Farmacêutica SA., e por toda a colaboração prestada durante o decorrer do estágio.

À Professora Doutora Maria José Brito agradeço a boa disposição e todo o tempo dispensado que contribui bastante para a conclusão desta dissertação.

À Professora Doutora Paula Robalo é com apreço que agradeço toda a simpatia e ajuda na realização da voltametria cíclica.

Aos meus colegas de laboratório Anabela, Andreia, Bebiana, Francisco, Isabel, Leonor, Maria Inês, Patrícia e Sofia pela alegria contagiante e motivação.

Agradeço aos meus colegas do Iberfar, Indústria Farmacêutica SA., por me terem recebido de braços abertos, pois contribuíram de forma muito positiva para a realização deste trabalho.

Aos meus grandes amigos, Adhan, André, Inês, Maria, Miguel, Pipa e Pinta, que acompanharam desde início o meu percurso académico, quero agradecer pela amizade e disponibilidade que sempre mantiveram, sendo que, foi fundamental para conseguir superar todas as adversidades.

Aos meus familiares quero agradecer todo o apoio e motivação, que sempre demonstraram e que foi essencial para ultrapassar todos os desafios.

À Joana, agradeço por sempre acreditar em mim e por mostrar que não há impossíveis.

Com esforço, dedicação e devoção será alcançada a glória.

Muito Obrigado a todos!

## Resumo

O trabalho realizado no âmbito deste mestrado em Química Tecnológica foi composto por duas vertentes, por um lado o desenvolvimento de novos complexos metálicos para potencial aplicação como agentes antitumorais, realizado na Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, por outro, o acompanhamento de todo o processo de produção industrial de um fármaco já em uso clínico, na empresa Iberfar, Indústria Farmacêutica SA.

A procura de novos fármacos que combatam o cancro e colmatem as ineficiências dos fármacos existentes em uso clínico é de extrema importância. Após a síntese e identificação dos compostos promissores, estes passam por um longo e complicado processo onde são sujeitos a vários estudos como a reprodutibilidade das sínteses, estudos de estabilidade, citotoxicidade, estudos de interacção com proteínas e DNA e estudos de distribuição celular, para identificar os seus modos de acção. Se os compostos cumprirem todos os requisitos necessários poderão a chegar aos estudos pré-clínicos e clínicos, levando este processo anos até atingir o mercado. Os fármacos produzidos na indústria farmacêutica já concluíram com sucesso todos os testes necessários e, por isso, já se encontram no mercado. Neste processo para garantir a qualidade do fármaco todas as etapas da produção, desde a chegada da matéria-prima ao embalamento do fármaco, são sujeitas a diversas análises.

A parte do trabalho realizada na Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, com a duração de aproximadamente oito meses, teve como objectivo a síntese e caracterização de novos complexos binucleares de Ru(II)-Cu(I), Cu(I)-Cu(I) e Ru(II)-Ru(II) com vista à sua aplicação como potenciais agentes anticancerígenos. No presente trabalho foram sintetizados dois complexos mononucleares de cobre de fórmula geral  $[Cu(mTPPMSNa)_2L][BF_4]$  (onde  $L = 2,3\text{-bis}(2\text{-piridil})\text{pirazina (dpp)}$  ou  $CH_3CN$ ). Foram, ainda, sintetizados três novos complexos binucleares inorgânicos de Cu(I)-Cu(I) de fórmula geral  $[(P)Cu(\mu\text{-dpp})Cu(P)][BF_4]_2$  (onde  $P = 2PPh_3$ ,  $2mTPPMSNa$  ou  $dppe$ ). Para além da síntese de complexos binucleares de cobre, obtiveram-se mais quatro complexos binucleares organometálicos, três de Ru(II)-Cu(I) de fórmula geral  $[Cu(P)(\mu\text{-dpp})RuCp(PPh_3)][CF_3SO_3][BF_4]$  (onde  $P = 2PPh_3$ ,  $2mTPPMSNa$  ou  $dppe$ ) e um complexo de Ru(II)-Ru(II)  $[(PPh_3)CpRu(\mu\text{-dpp})Ru(PPh_3)][CF_3SO_3]_2$ .

Todos os complexos foram caracterizados por várias técnicas espectroscópicas como FT-IR, UV-vis,  $^1H$  RMN,  $^{31}P$  RMN,  $^{13}C$  RMN, e pelas técnicas bidimensionais de RMN cosy, HMBC e HSQC. Para um dos complexos, foram realizadas ainda experiências de RMN a baixas temperaturas (entre  $10^\circ C$  e  $-40^\circ C$ ) e estudos computacionais de teoria do funcional da densidade (cálculos DFT) que nos permitiram comprovar a existência de isómeros. As análises elementares vieram a confirmar algumas estruturas propostas.

A actividade citotóxica do complexo  $[Cu(dppe)(\mu\text{-dpp})RuCp(PPh_3)][CF_3SO_3][BF_4]$  (8) foi avaliada nas linhas celulares cancerígenas humanas do carcinoma do ovário (A2780 e A2780cisR), do adenocarcinoma da mama (MCF7) e ainda na linha celular não tumoral humana embrionária do rim (HEK293). A actividade citotóxica dos restantes complexos sintetizados foi avaliada na linha celular cancerígena do adenocarcinoma da mama (MDA-MB-231). De modo a obter alguma informação acerca dos possíveis modos de acção dos complexos foi realizado um estudo de produção de espécies de oxigénio reactivas (ROS) ao complexo  $[Cu(dppe)(\mu\text{-dpp})RuCp(PPh_3)][CF_3SO_3][BF_4]$  (8).

O estágio de um mês realizado na empresa Iberfar, Indústria Farmacêutica SA, possibilitou o acompanhamento de todo o processo industrial da produção de um fármaco, desde a recepção da matéria-prima até ao embalamento do produto final.

### Palavras Chave

Ruténio	Cobre
Complexos binucleares	Cancro
Fármaco	

## Abstract

The work carried out under this master's degree in Technological Chemistry was composed of two parts, on one side the development of new metallic complexes for potential use as antitumor agents, performed at Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, on the other side the accompaniment of the entire process of a drug industrial production already in clinical use, at Iberfar, Indústria Farmacêutica SA company.

The search of new drugs for cancer treatment that overcomes the inefficiencies of the existing drugs in clinical use is of the utmost importance. After the synthesis and identification of promising compounds, they undergo a long and complicated process, where they are subjected to several studies, such as the synthesis reproducibility, cytotoxicity, stability studies, DNA and proteins interaction studies and cellular distribution studies to clarify their mode of action. If the compounds comply all the necessary requirements, they will be able to enter in pre-clinical and clinical trials, a process that take years to reach the market. In the pharmaceutical industry, the drugs have already accomplishment with success all tests necessary, and are already in the market. In this process to guarantee the quality of the drug every stages of the production, since the arrival of raw material to the final product packaging, are subjected to diverse analysis.

The work carried out at Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, with duration of approximately eight months, aimed the synthesis of new binuclear complexes of Ru(II)-Cu(I), Cu(I)-Cu(I) and Ru(II)-Ru(II), for application as potential anticancer agents. In the present work, two mononuclear copper(I) complexes of general formula  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2\text{L}][\text{BF}_4]$  were synthesized (where L = 2,3-bis(2-pyridyl)pyrazine (dpp) or  $\text{CH}_3\text{CN}$ ). Also three inorganic binuclear Cu(I)-Cu(I) complexes of general formula  $[(\text{P})\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{P})][\text{BF}_4]_2$  were synthesized (where P =  $2\text{PPh}_3$ ,  $2m\text{TPPMSNa}$  or dppe). In addition to the synthesis of binuclear copper complexes, another four organometallic complexes were obtained, three Ru(II)-Cu(I) complexes of general formula  $[\text{Cu}(\text{P})(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (where P =  $2\text{PPh}_3$ ,  $2m\text{TPPMSNa}$  or dppe) and one Ru(II)-Ru(II) complex  $[(\text{PPh}_3)\text{CpRu}(\mu\text{-dpp})\text{Ru}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3]_2$ ;

All the complexes were characterized by several spectroscopy techniques such as FT-IR, UV-vis,  $^1\text{H}$  RMN,  $^{31}\text{P}$  RMN,  $^{13}\text{C}$  RMN, and two-dimensional NMR techniques (cosy, HMBC e HSQC). For one complex it was necessary perform NMR experiments at low temperatures (between  $10^\circ\text{C}$  to  $-40^\circ\text{C}$ ) that together with computational studies of density functional theory (DFT calculations) showed the presence of isomers in the complex. Elemental analyses have confirmed some of the proposed structures.

The cytotoxic activity of the  $[\text{Cu}(\text{dppe})(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (8) complex was evaluated in ovarian carcinoma (A2780, A2780cisR) and breast adenocarcinoma (MCF7) human cancer cell lines, and in a non-tumoral human embryonic kidney cell line (HEK293). The cytotoxic activity of the remaining synthesized complexes was evaluated in breast adenocarcinoma (MDA-MB-231) human cancer cell line. In order to get some information about the mode of action of the  $[\text{Cu}(\text{dppe})(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (8) complex a study of the production of reactive oxygen species (ROS) was performed.

During the month in Iberfar, Indústria Farmacêutica SA., it was possible follow the entire industrial process of producing drugs, since the reception of raw material to the packaging of the final product.

### Key Words

Ruthenium	Copper
Binuclear complexes	Cancer
Drug	

# Índice Geral

Agradecimentos.....	i
Resumo.....	ii
Palavras-chave.....	ii
Abstract .....	iii
Key words .....	iii
Índice Geral .....	iv
Índice de tabelas .....	viii
Índice de figuras .....	x
Índice de esquemas .....	xiv
Símbolos e Abreviaturas .....	xv
Índice de compostos .....	xvii

## Capítulo 1

1-Introdução .....	2
1.1- Cancro .....	2
1.2- Metalofármacos usados no tratamento do cancro .....	2
1.3- Ruténio .....	3
1.4- NAMI-A.....	3
1.5- KP1019.....	4
1.6- Complexos Organometálicos .....	5
1.6.1- Ruténio Arenó .....	5
1.6.2- Ruténio Ciclopentadienilo .....	6
1.7- Cobre .....	8
1.8- Complexos Bimetálicos .....	9
1.9- Enquadramento do presente trabalho .....	10

## Capítulo 2

2-Síntese e caracterização dos complexos mononucleares e binucleares de Cu(I).....	13
2.1- Objectivo.....	13
2.2- Sínteses dos complexos mononucleares de Cobre (I) .....	13
2.2.1- Caracterização dos compostos .....	14

2.2.1.1- Espectroscopia de Infravermelho .....	14
2.2.1.2- Espectroscopia de $^1\text{H}$ RMN .....	15
2.2.1.3- Espectroscopia de $^{31}\text{P}$ RMN .....	16
2.2.1.4- Espectroscopia $^{13}\text{C}$ RMN .....	17
2.2.1.5- Espectros electrónicos de Ultravioleta-visível .....	18
2.2.1.6- Análises elementares .....	19
2.3- Sínteses dos complexos binucleares Cobre (I)-Cobre(I) .....	20
2.3.1- Caracterização dos compostos .....	20
2.3.1.1- Espectroscopia de Infravermelho .....	20
2.3.1.2- Espectroscopia de $^1\text{H}$ RMN .....	21
2.3.1.3- Espectroscopia de $^{31}\text{P}$ RMN .....	23
2.3.1.4- Espectroscopia de $^{13}\text{C}$ RMN .....	24
2.3.1.5- Espectros electrónicos de Ultravioleta-visível .....	25
2.3.1.6- Análises elementares .....	27
2.4- Síntese inconclusiva .....	28
2.4.1- Reacção A .....	28

### Capítulo 3

3-Síntese e caracterização dos complexos binucleares de Cu(I)-Ru(II) e Ru(II)-Ru(II) .....	33
3.1- Objectivo .....	33
3.2- Síntese dos complexos binucleares de Cobre(I)-Ruténio(II) .....	33
3.2.1- Caracterização dos compostos .....	34
3.2.1.1- Espectroscopia de Infravermelho .....	34
3.2.1.2- Espectroscopia de $^1\text{H}$ RMN .....	34
3.2.1.3- Espectroscopia de $^{31}\text{P}$ RMN .....	38
3.2.1.4- Espectroscopia de $^{13}\text{C}$ RMN .....	39
3.2.1.5- Espectros electrónicos de Ultravioleta-visível .....	39
3.2.1.6- Análises elementares .....	41
3.2.1.7 – Estudos de teoria do funcional da densidade (DFT) .....	42
3.3- Sínteses dos complexos binucleares Ruténio(II)-Ruténio(II) .....	43
3.3.1- Caracterização dos compostos .....	43
3.3.1.1 - Espectroscopias de $^1\text{H}$ RMN e $^{31}\text{P}$ RMN .....	43
3.4- Análise elementar .....	45
3.5- Sínteses inconclusivas .....	45

3.5.1- Reacção B .....	46
3.5.2- Reacção C .....	48

## Capítulo 4

4- Avaliação Biológica.....	53
4.1- Avaliação das propriedades citotóxicas dos complexos.....	53
4.1.1- Actividade citotóxica na linha celular tumoral humana do carcinoma da mama (MDA-MB-231).....	53
4.1.2- Actividade citotóxica nas linhas celulares tumorais humanas do carcinoma da mama (MCF7) e do carcinoma do ovário (A2780, A2780cisR) .....	56
4.1.3- Actividade citotóxica na linha celular não-tumoral humana embrionária do rim (HEK293) ..	59
4.2- Produção de espécies de oxigénio reactivas (ROS) .....	59

## Capítulo 5

5- Um olhar sobre a indústria farmacêutica .....	62
5.1- Etapas para o processo de produção de um medicamento .....	62
5.1.1- No armazém .....	63
5.1.2- Recolha da Matéria-prima .....	63
5.1.3- Produção .....	63
5.1.4- Produto semi-acabado .....	64
5.1.5- Produto acabado .....	65
5.1.6- Estabilidade .....	65
5.2- Segurança e Cuidados Ambientais .....	66

## Capítulo 6

6- Execução Financeira, Segurança e Cuidados Ambientais .....	68
6.1- Execução financeira .....	68
6.2- Regras de segurança .....	69
6.3- Cuidados ambientais .....	69

## Capítulo 7

7- Conclusão e perspectivas futuras .....	71
---	----

## Capítulo 8

8- Descrição experimental.....	74
8.1- Materiais e técnicas de caracterização .....	74
8.1.1- Considerações gerais .....	74
8.1.2- Solventes .....	74
8.1.3- Métodos de caracterização e purificação .....	74
8.1.3.1- Espectroscopia de infravermelho (FT-IR).....	74
8.1.3.2- Espectroscopia de Ultravioleta-Visível (UV-vis) .....	74
8.1.3.3- Espectroscopia de Ressonância magnética nuclear (RMN) .....	75
8.1.3.4- Análise elementar C, H, N e S .....	75
8.1.3.5- Voltametria Cíclica .....	75
8.1.3.6- Teoria do funcional da densidade (DFT) .....	75
8.2- Descrição das sínteses dos complexos e compostos de partida.....	76
8.2.1- Síntese dos precursores .....	76
8.2.2- Síntese dos complexos mononucleares de Cu(I).....	78
8.2.3- Síntese dos complexos binucleares de Cu(I)-Cu(I).....	79
8.2.4- Síntese dos complexos binucleares de Cu(I)-Ru(II) .....	80
8.2.5- Síntese do complexo binuclear de Ru(II)-Ru(II).....	81
8.2.6- Sínteses não conclusivas .....	82
8.3- Ensaio biológicos.....	83
8.3.1- Ensaio MTT .....	83
8.3.2-Ensaio NBT .....	83
 Bibliografia .....	 86
 Anexos .....	 xx
I- Espectros infravermelhos.....	xx
II - Espectros RMN bidimensionais (cosy e HMBC) .....	xxii
III- Espectroscopia de UV-vis .....	xxvi
IV- Espectro <sup>1</sup> H RMN da Reacção [RuCp(PPh <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Cl] + 1,1'- Carbonildiimidazole .....	xxxiii
V- Fichas MSDs dos reagentes e solventes .....	xxxiii



# Índice de Tabelas

## Capítulo 2

Tabela 2.1 – Percentagem de C, H, N e S determinada por análise elementar aos complexos  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  (1) e  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\text{dpp})][\text{BF}_4]$  (2).

Tabela 2.2 – Dados de  $^1\text{H}$  RMN dos complexos  $[(\text{PPh}_3)_2\text{Cu}(\text{dpp})\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2][\text{BF}_4]_2$  (3) e  $[(\text{dppe})\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{dppe})][\text{BF}_4]_2$  (5) e do ligando dpp livre (desvios químicos em ppm).

Tabela 2.3 – Percentagem de C, H, N e S determinada por análise elementar aos complexos  $[(\text{PPh}_3)_2\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2][\text{BF}_4]_2$  (3),  $[(m\text{TPPMSNa})_2\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2][\text{BF}_4]_2$  (4) e  $[(\text{dppe})\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{dppe})][\text{BF}_4]_2$  (5).

Tabela 2.4 – Valores de condutividade (mS/cm) dos possíveis complexos formados.

## Capítulo 3

Tabela 3.1 – Dados de  $^1\text{H}$  RMN dos complexos  $[(\text{PPh}_3)\text{CpRu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2][\text{CF}_3\text{SO}_3]$  (6) e  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (7) e do precursor  $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)(\text{dpp})][\text{CF}_3\text{SO}_3]$  (desvios químicos em ppm).

Tabela 3.2 – Percentagem de C, H, N e S determinada por análise elementar aos complexos  $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (6),  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (7) e  $[\text{Cu}(\text{dppe})(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (8).

Tabela 3.3 – Percentagem de C, H, N e S determinada por análise elementar ao complexo  $[(\text{PPh}_3)\text{CpRu}(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3]_2$  (9).

Tabela 3.4 – Percentagem de C, H, N e S determinada por análise elementar ao complexo formado.

Tabela 3.5 – Dados electroquímicos dos complexos  $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)_2\text{Im}][\text{CF}_3\text{SO}_3]$  e  $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)_2(\text{Im})][\text{PF}_6]$  em diclorometano e acetonitrilo.

Tabela 3.6 – Percentagem de C, H, N e S determinada por análise elementar ao complexo formado na reacção B.

## Capítulo 4

Tabela 4.1 - Valores de  $\text{IC}_{50}$  obtidos para os complexos 1-4 e 7 na linha celular MDA-MB-231 (48h, 37°C).

Tabela 4.2 - Valores de  $\text{IC}_{50}$  obtidos para os complexos,  $[\text{Cu}(\text{dppe})(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (8),  $[\text{Cu}(\text{dppe})(\text{dpp})][\text{BF}_4]$ ,  $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)(\text{dpp})][\text{CF}_3\text{SO}_3]$ ,  $[\text{Cu}(\text{dppe})(\text{CH}_3\text{CN})][\text{BF}_4]$  e para a cisplatina nas linhas celulares A2780 e MCF7 (24h, 37°C).

## Capítulo 6

Tabela 6.1 - Custos relativos aos solventes, reagentes e análises realizadas no decorrer do projecto de mestrado em Química Tecnológica.

## Capítulo 8

Tabela 8.1 - Processo de secagem do diclorometano e do n-hexano.

## Anexos

Tabela I - Dados de UV-vis dos complexos  $[\text{Cu}(\text{mTPPMSNa})_2(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  (1) e  $[\text{Cu}(\text{mTPPMSNa})_2(\text{dpp})][\text{BF}_4]$  (2) e do ligando dpp livre, em diclorometano.

Tabela II - Dados de UV-vis dos complexos  $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  e  $[(\text{PPh}_3)_2\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2][\text{BF}_4]_2$  (3) e do ligando dpp livre, em diclorometano.

Tabela III - Dados de UV-vis dos complexos  $[\text{Cu}(\text{mTPPMSNa})_2(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  (1) e  $[(\text{mTPPMSNa})_2\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{mTPPMSNa})_2][\text{BF}_4]_2$  (4) e do ligando dpp livre, em diclorometano.

Tabela IV - Dados de UV-vis dos complexos  $[\text{Cu}(\text{dppe})(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  e  $[(\text{dppe})\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{dppe})][\text{BF}_4]_2$  (5) e do ligando dpp livre, em diclorometano.

Tabela V - Dados de UV-vis dos complexos  $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  e  $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2(\mu\text{-dpp})\text{Ru}(\text{Cp})(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (6) e do ligando dpp livre, em diclorometano.

Tabela VI - Dados de UV-vis dos complexos  $[\text{Cu}(\text{mTPPMSNa})_2(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  (1) e  $[\text{Cu}(\text{mTPPMSNa})_2(\mu\text{-dpp})\text{Ru}(\text{Cp})(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (7) e do ligando dpp livre, em diclorometano.

Tabela VII - Dados de UV-vis dos complexos  $[\text{Cu}(\text{dppe})(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  e  $[\text{Cu}(\text{dppe})(\mu\text{-dpp})\text{Ru}(\text{Cp})(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (8) e do ligando dpp livre, em diclorometano.

# Índice de Figuras

## Capítulo 1

Figura 1.1 – Metalofármacos de platina em uso clínico: cisplatina, carboplatina e oxaliplatina.

Figura 1.2 – Estrutura do composto inorgânico de ruténio(III) NAMI-A,  $[\text{ImH}][\text{trans-RuCl}_4(\text{DMSO})\text{Im}]$ .

Figura 1.3 – Estrutura do composto inorgânico de ruténio(III) KP1019  $[\text{InH}][\text{trans-RuCl}_4\text{In}_2]$ .

Figura 1.4 – Exemplos de complexos de Ru(II) contendo o fragmento  $\eta^6$ -areno, das famílias RAED (em cima) e RAPTA (em baixo) com propriedades anti-tumorais.

Figura 1.5 – Alguns complexos de ruténio(II) contendo o fragmento “RuCp” com propriedades anticancerígenas.

Figura 1.6 – Exemplos de complexos de cobre(I) com actividade anticancerígena.

Figura 1.7 – Alguns complexos poliméricos e bimetalícos de ruténio-platina e platina-platina com actividade citotóxica.

## Capítulo 2

Figura 2.1 – Espectro  $^1\text{H}$  RMN do complexo  $[\text{Cu}(\text{mTPPMSNa})_2(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  (1) em dimetilsulfóxido-*d*.

Figura 2.2 – Sobreposição dos espectros de  $^1\text{H}$  RMN do complexo  $[\text{Cu}(\text{mTPPMSNa})_2(\text{dpp})][\text{BF}_4]$  (2) em a diferentes temperaturas (20°C, 0°C, -20°C, -30°C, -40°C) e do ligando dpp livre a 20°C, clorofórmio-*d*.

Figura 2.3 – Espectros de  $^{31}\text{P}$  RMN dos complexos  $[\text{Cu}(\text{mTPPMSNa})_2(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  (1) e  $[\text{Cu}(\text{mTPPMSNa})_2(\text{dpp})][\text{BF}_4]$  (2) em clorofórmio-*d*.

Figura 2.4 – Espectro de  $^{13}\text{C}$  do complexo  $[\text{Cu}(\text{mTPPMSNa})_2(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  (1) em dimetilsulfóxido-*d*.

Figura 2.5 – Espectro do UV-vis dos complexos  $[\text{Cu}(\text{mTPPMSNa})_2(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  (1) (—) e  $[\text{Cu}(\text{mTPPMSNa})_2(\text{dpp})][\text{BF}_4]$  (2) (---) e do ligando dpp livre (....) em diclorometano.

Figura 2.6 – Espectro  $^1\text{H}$  RMN do complexo  $[(\text{PPh}_3)_2\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2][\text{BF}_4]_2$  (3) em clorofórmio-*d*.

Figura 2.7 – Espectro  $^1\text{H}$  RMN do complexo  $[(\text{mTPPMSNa})_2\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{mTPPMSNa})_2][\text{BF}_4]_2$  (4) em dimetilsulfóxido-*d*.

Figura 2.8 – Espectro  $^1\text{H}$  RMN do complexo  $[(\text{dppe})\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{dppe})][\text{BF}_4]_2$  (5) em clorofórmio-*d*.

Figura 2.9 – Espectros de  $^{31}\text{P}$  RMN dos complexos  $[(\text{PPh}_3)_2\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2][\text{BF}_4]_2$  (3) em clorofórmio-*d*,  $[(m\text{TPPMSNa})_2\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2][\text{BF}_4]_2$  (4) em dimetilsulfóxido-*d* e  $[(\text{dppe})\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{dppe})][\text{BF}_4]_2$  em clorofórmio-*d*.

Figura 2.10 – Espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN do complexo  $[(\text{PPh}_3)_2\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2][\text{BF}_4]_2$  (3) em clorofórmio-*d*.

Figura 2.11 – Espectro de UV-vis dos complexos  $[(\text{PPh}_3)_2\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2][\text{BF}_4]_2$  (3) (—),  $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  (---) e do ligando dpp (....), em diclorometano.

Figura 2.12 – Espectro de UV-vis dos complexos  $[(m\text{TPPMSNa})_2\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2][\text{BF}_4]_2$  (4) (—),  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  (---) e do ligando dpp (....), em diclorometano.

Figura 2.13 – Espectro de UV-vis dos complexos  $[(\text{dppe})\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{dppe})][\text{BF}_4]_2$  (5) (—),  $[\text{Cu}(\text{dppe})(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  (---) e do ligando dpp (....), em diclorometano.

### Capítulo 3

Figura 3.1 – Espectro de  $^1\text{H}$  RMN do complexo  $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (6), em clorofórmio-*d*.

Figura 3.2 – Espectro de  $^1\text{H}$  RMN do complexo  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (7), em dimetilsulfóxido-*d*.

Figura 3.3 – Sobreposição dos espectros de  $^1\text{H}$  RMN a diferentes temperaturas (20°C, 0°C, -20°C, -30°C, -40°C) do complexo  $[\text{Cu}(\text{dppe})(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (8), em clorofórmio-*d*.

Figura 3.4 – Espectro de  $^{31}\text{P}$  RMN dos complexos  $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (6),  $[(\text{PPh}_3)\text{CpRu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (7) e  $[\text{Cu}(\text{dppe})(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (8), em clorofórmio-*d*.

Figura 3.5 – Espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN do complexo  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (7), em dimetilsulfóxido-*d*.

Figura 3.6 – Espectro de UV-vis dos complexos  $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (6) (—),  $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)_2\text{dpp}][\text{CF}_3\text{SO}_3]$  (---) e  $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2(\text{CH}_3\text{CN})][\text{BF}_4]$  (....), em diclorometano.

Figura 3.7 – Espectro de UV-vis dos complexos  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (7) (—),  $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)\text{dpp}][\text{CF}_3\text{SO}_3]$  (---), e  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  (....), em diclorometano.

Figura 3.8 – Espectro de UV-vis dos complexos  $[\text{Cu}(\text{dppe})(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (8) (—),  $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)\text{dpp}][\text{CF}_3\text{SO}_3]$  (---), e o  $[\text{Cu}(\text{dppe})(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  (....), em diclorometano.

Figura 3.9 – Estruturas otimizadas por DFT (PBE0) dos isômeros 3-A1, 3-A2, 3-B1 e 3-B2. A energia livre relativa (kcal/mol) também está presente.

Figura 3.10 – Sobreposição dos espectros de  $^1\text{H}$  RMN do complexo  $[(\text{PPh}_3)\text{CpRu}(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3]_2$  (9) a diferentes temperaturas (20°C, 0°C, -20°C, -30°C, -40°C), em acetona-*d*<sub>6</sub>.

Figura 3.11 – Sobreposição dos espectros ampliados de  $^1\text{H}$  RMN do complexo  $[(\text{PPh}_3)\text{CpRu}(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3]_2$  (9) a diferentes temperaturas (20°C, 0°C, -20°C, -30°C, -40°C), em acetona- $d_6$ .

Figura 3.12 – Sobreposição dos espectros  $^{31}\text{P}$  RMN do complexo  $[(\text{PPh}_3)\text{CpRu}(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3]_2$  (9) a diferentes temperaturas (20°C, 0°C, -20°C, -30°C, -40°C), em acetona- $d_6$ .

Figura 3.13 – Espectro  $^1\text{H}$  RMN do composto obtido na reacção C a).

Figura 3.14 – Espectro de  $^1\text{H}$  RMN do complexo obtido da reacção C b).

## Capítulo 4

Figura 4.1 – Viabilidade celular (%) dos fosfanos,  $\text{PPh}_3$  (vermelho) e dppe (preto) na linha celular A2780 (24h, 37°C).

Figura 4.2 - Valores de  $\text{IC}_{50}$  obtidos para o complexo  $[\text{Cu}(\text{dppe})(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (8) e os seus precursores  $[\text{Cu}(\text{dppe})(\text{dpp})][\text{BF}_4]$  e  $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)(\text{dpp})][\text{CF}_3\text{SO}_3]$  nas linhas celulares A2780cisR e A2780 (24h, 37°C).

Figura 4.3 - Viabilidade celular (%) para o complexo  $[\text{Cu}(\text{dppe})(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (8) (verde) e dos seus precursores  $[\text{Cu}(\text{dppe})(\text{dpp})][\text{BF}_4]$  (vermelho) e  $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)(\text{dpp})][\text{CF}_3\text{SO}_3]$  (azul) na linha celular não tumoral HEK (24h).

Figura 4.4 - Produção de espécies de oxigénio reactivas (ROS) do complexo  $[\text{Cu}(\text{dppe})(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (8) e dos seus precursores  $[\text{Cu}(\text{dppe})(\text{dpp})][\text{BF}_4]$  e  $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)(\text{dpp})][\text{CF}_3\text{SO}_3]$  por dois ensaios, NBT e MTT.

## Capítulo 5

Figura 5.1 – Representação esquemática do processo de produção de um medicamento, desde a chegada da matéria-prima ao embalamento do produto final.

## Anexos

Figura I – Espectro de FT-IR do complexo  $[\text{Cu}(\text{mTPPMSNa})_2(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  (1) em KBr.

Figura II – Espectro de FT-IR do complexo  $[\text{Cu}(\text{mTPPMSNa})_2(\text{dpp})][\text{BF}_4]$  (2) em KBr.

Figura III – Espectro de FT-IR do complexo  $[(\text{PPh}_3)_2\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2][\text{BF}_4]_2$  (3) em KBr.

Figura IV – Espectro de FT-IR do complexo  $[(\text{mTPPMSNa})_2\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{mTPPMSNa})_2][\text{BF}_4]_2$  (4) em KBr.

Figura V – Espectro de FT-IR do complexo  $[(\text{dppe})\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{dppe})][\text{BF}_4]_2$  (5) em KBr.

Figura VI – Espectro de FT-IR do complexo  $[\text{Cu}(\text{mTPPMSNa})_2(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (7) em KBr.

Figura VII – Espectro de FT-IR do complexo  $[\text{Cu}(\text{dppe})(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (8) em KBr.

Figura VIII - Espectro de cosy do complexo  $[\text{Cu}(\text{mTPPMSNa})_2(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  (1) em  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ .

Figura IX - Espectro cosy do complexo  $[(\text{PPh}_3)_2\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2][\text{BF}_4]_2$  (3) em  $\text{CDCl}_3$ .

Figura X – Espectro cosy do complexo  $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (6) em  $\text{CDCl}_3$ .

Figura XI - Espectro cosy do complexo  $[\text{Cu}(\text{mTPPMSNa})_2(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (7) em  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ .

Figura XII- Espectro HMBC do complexo  $[\text{Cu}(\text{mTPPMSNa})_2(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  (1) em  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ .

Figura XIII - Espectro HMBC do complexo  $[(\text{PPh}_3)_2\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2][\text{BF}_4]_2$  (3) em  $\text{CDCl}_3$ .

Figura XIV- Espectro HMBC do complexo  $[\text{Cu}(\text{mTPPMSNa})_2(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (7) em  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ .

Figura XV- Espectro  $^1\text{H}$  RMN do complexo formado na  $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}] + 1,1'$ -Carbonildiimidazole.

# Índice de Esquemas

## Capítulo 2

Esquema 2.1– Esquema reaccional da síntese dos complexos  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  (1) e  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\text{dpp})][\text{BF}_4]$  (2).

Esquema 2.2 – Esquema reaccional da síntese dos complexos  $[(\text{PPh}_3)_2\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2][\text{BF}_4]_2$  (3),  $[(m\text{TPPMSNa})_2\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2][\text{BF}_4]_2$  (4) e  $[(\text{dppe})\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{dppe})][\text{BF}_4]_2$  (5).

Esquema 2.3 – Esquema da reação do complexo  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  com o ligando 1,1'-carbonildiimidazole

## Capítulo 3

Esquema 3.1– Esquema reacional da síntese dos complexos  $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (6),  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (7) e  $[\text{Cu}(\text{dppe})(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (8)

Esquema 3.2 – Esquema reacional da síntese do complexo  $[(\text{PPh}_3)\text{CpRu}(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3]_2$  (9)

Esquema 3.3 – Esquema da reação do complexo  $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}][\text{CF}_3\text{SO}_3]$  com o ligando 1,1'-carbonildiimidazole.

Esquema 3.4 – Esquema da reação do complexo  $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)(\text{dc bpy})][\text{CF}_3\text{SO}_3]$  com o ligando EDC e o ligando N-hidroxisuccinimida (a)) e do complexo formado em a) com o ligando 1-(3-aminopropil)imidazole.

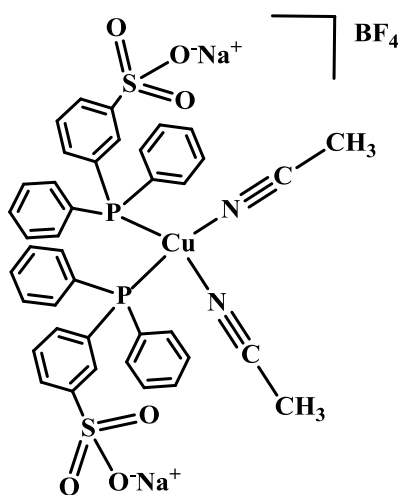
## Símbolos e Abreviaturas

$\Delta$	Aquecimento
$\varepsilon$	Coefficiente de absorvidade molar (UV-Vis)
$\lambda$	Comprimento de onda
$\delta$	Desvio químico
$\delta/\text{ppm}$	Desvio químico em partes por milhão (RMN)
A2780	Linha celular tumoral humana do carcinoma do ovário
A2780 cisR	Linha celular tumoral humana do carcinoma do ovário resistente à cisplatina
ATP	Adenosina trifosfato
Dcbpy	Ácido 2-2'-bipiridina-4-4'-dicarboxílico
CDI	1,1'-Carbonildiimidazole
Cosy	Espectroscopia de correlação
Cp	Ciclopentadienilo
d	Duplete (RMN)
DMEM	Meio celular (Dulbecco's Modified Eagle Medium)
DFT	Teoria do funcional da densidade
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
dpp	2,3-bis(2-piridil)pirazina
Dppe	1,2-difenilfosfinoetano
EDC	Hidrocloreto N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida
Epa	Potencial do pico anódico
Epc	Potencial do pico catódico
FBS	Soro fetal de bovino
FT-IR	Espectroscopia de Infra vermelho por transformada de Fourier
GSK-3	Proteína cinase sintase glicogénio 3
h	Hora
HER2	Receptor tipo 2 do factor de crescimento epidérmico humano
HEK293	Células não tumorais do rim embrionário humano
HL60	Células cancerígenas de leucemia humana
HMBC	Correlação heteronuclear de ligação múltipla
HMQC	Correlação heteronuclear Multiple Quantum

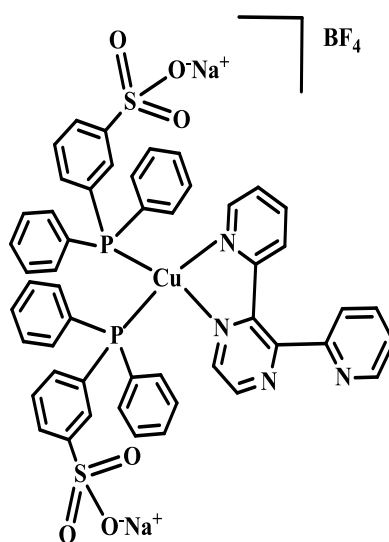


HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
HSA	Albumina do soro humano
IC <sub>50</sub>	Concentração mínima necessária para inibir a população celular em 50%
MDA-MB-231	Linha celular tumoral humana do carcinoma da mama independente de estrogênio
MCF7	Linha celular tumoral humana do carcinoma da mama dependente de estrogênio
MiaPaca	Linha celular tumoral humana do carcinoma do pâncreas
MTT	Brometo de 3-(4,5- dimetil-2-tiazolil)- 2,5 – difeniltetrazolio
<i>m</i> TPPMSNa	difenilfosfano-benzeno-3-sulfonato
NBT	Nitroazul de tetrazólio
NIR	Espectroscopia de Infravermelho próximo
PARP	Poli-(ADP-ribose)-polimerase
PC3	Linha celular tumoral humana do carcinoma da próstata
PMC	Complexo metálico polimérico
PPh <sub>3</sub>	Trifenilfosfano
ppm	Partes por milhão
PTA	1,3,5-triaza-7-fosfoadamantano
Pim-1	Proteína cinase serina/treonina
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
<sup>1</sup> H-RMN	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Protão
<sup>31</sup> P-RMN	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Fósforo
<sup>13</sup> C-RMN	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Carbono
s	Singleto (RMN)
SCE	Eletródo Saturado de Calomelanos
t	Tripleto (RMN)
TLC	Cromatografia de camada fina
TM34	[RuCp(PPh <sub>3</sub> )(2-2'-bipy)][CF <sub>3</sub> SO <sub>3</sub> ]
TM85	[RuCp( <i>m</i> TPPMSNa)(2-2'-bipy)][CF <sub>3</sub> SO <sub>3</sub> ]
TMS	Tetrametilsilano
UV-Vis	Espetroscopia de ultravioleta e visível
VC	Voltametria cíclica

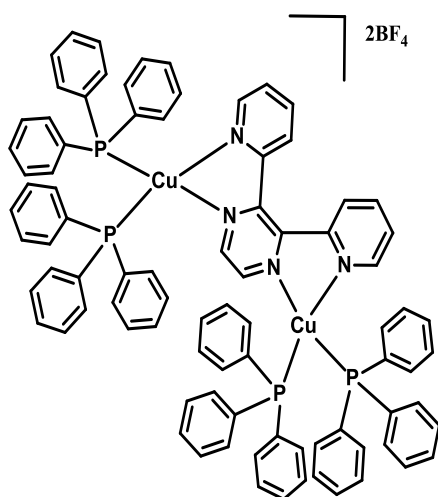
## Índice de complexos



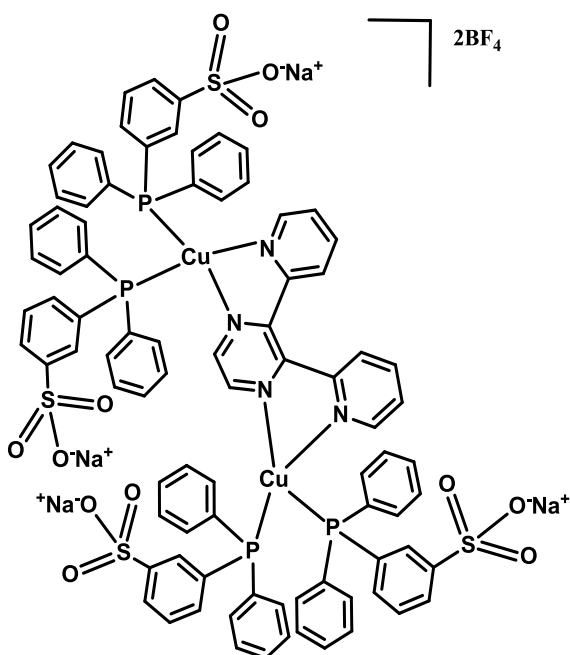
Complexo 1



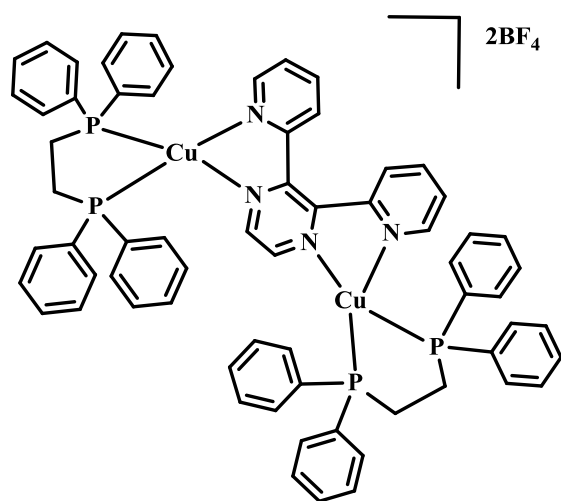
Complexo 2



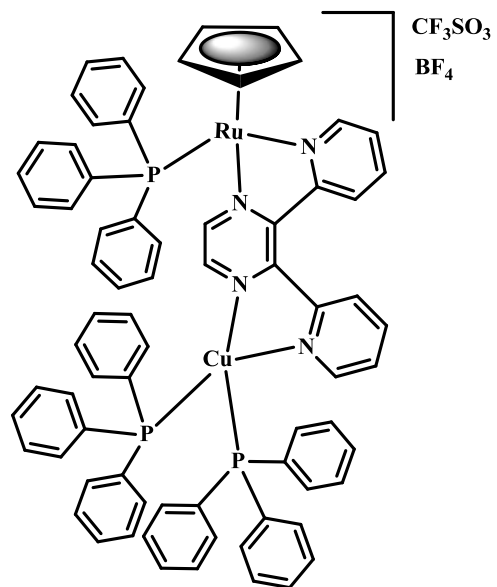
Complexo 3



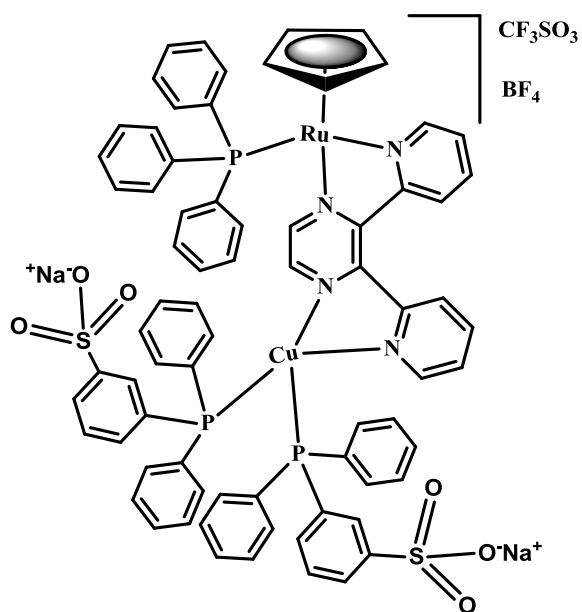
Complexo 4



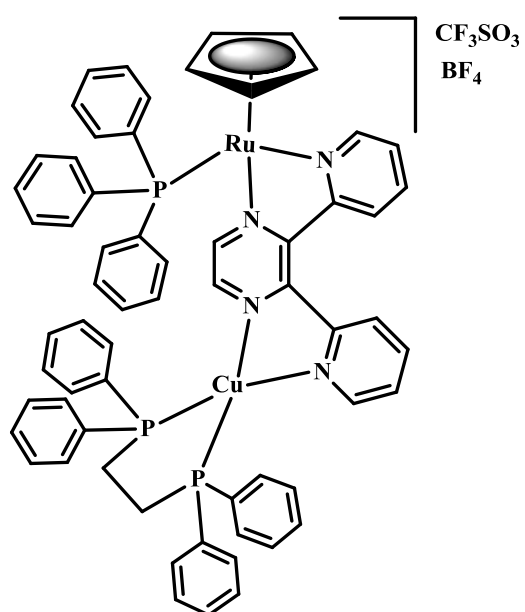
Complexo 5



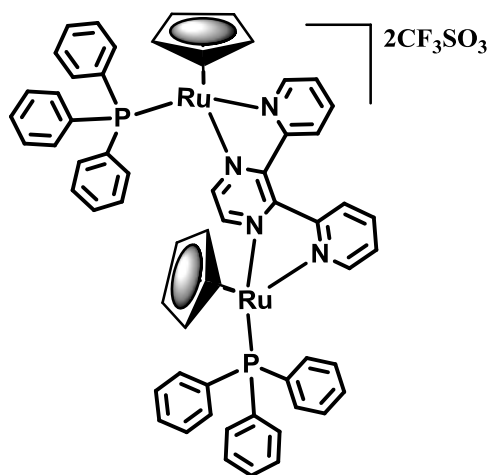
Complexo 6



Complexo 7



Complexo 8



**Complexo 9**

---

# Capítulo 1

---

*Introdução*

# **1- Introdução**

## **1.1-Cancro**

O cancro, também designado por tumor, é o termo usado para designar um conjunto de doenças que podem afectar todo o organismo. Globalmente são diagnosticados milhões de casos de cancro por ano, segundo dados da Organização Mundial de Saúde (WHO) morrem cerca de 8,2 milhões de pessoas por ano e prevê-se que o número de novos casos aumente cerca de 70% nas próximas duas décadas [1].

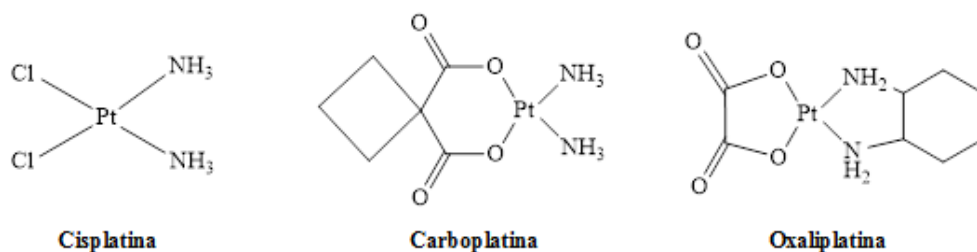
Num processo normal as células crescem e dividem-se originando novas células. Durante o seu ciclo de vida normal, envelhecem, morrem e são substituídas por outras, no entanto, por vezes este processo não ocorre da forma esperada e o ADN sofre alterações que afectam o crescimento, a divisão e a morte celular. Formam-se então novas células sem que o organismo necessite, não ocorrendo simultaneamente a morte das mais envelhecidas. Esta proliferação anormal de células dá origem a um tumor. Os tumores têm a capacidade de invadir e espalhar-se por diferentes regiões do corpo através do sistema linfático ou da corrente sanguínea dando origem a metástases. Os tipos de cancro mais frequentes nos homens são o pulmão, próstata, colorectal, estômago e fígado, enquanto, nas mulheres observam-se com maior frequência os cancros da mama, colorectal, pulmão, colo do útero e estômago [2].

Os tratamentos actualmente utilizados incluem sempre que possível a remoção cirúrgica, seguida de radioterapia, quimioterapia ou terapêutica hormonal ou biológica. Estes tratamentos são normalmente divididos em dois grupos. O primeiro grupo denominado por terapêutica local, que inclui tratamentos como a cirurgia e a radioterapia, incide essencialmente numa zona específica do corpo actuando sobre o tumor primário de forma a remover ou destruir as células tumorais. A quimioterapia e a terapêutica hormonal e biológica fazem parte do segundo grupo, denominado por terapêutica sistémica, em que o fármaco entra na corrente sanguínea actuando sobre todo o corpo destruindo ou controlando o cancro [3]. No entanto, os tratamentos existentes são bastantes invasivos e não são eficientes, nem selectivos, ou seja, tanto atacam as células cancerígenas como células normais, o que conduz a diversos efeitos secundários que afectam a condição do doente, como por exemplo cansaço, a perda de cabelos e danos no aparelho digestivo (falta de apetite, náuseas, vômitos, diarreias) [3]. Portanto, é extremamente necessário o desenvolvimento de novos fármacos que colmatem a ineficiência dos fármacos actualmente utilizados e que inibam selectivamente as células cancerígenas sem afectar as células saudáveis.

## **1.2-Metalofármacos usados no tratamento do cancro**

A actividade farmacológica da cisplatina foi descoberta por Rosenberg em 1969, tornando-se o primeiro fármaco inorgânico anticancerígeno introduzido em uso clínico [4].

A descoberta da cisplatina (figura 1.1) levou à procura de mais metalofármacos, foram desenvolvidos vários análogos de platina, mas apenas dois a carboplatina e a oxaliplatina (figura 1.1), entraram em uso clínico [5]. Contudo, a cisplatina e os seus análogos possuem algumas desvantagens como uma elevada toxicidade, falta de eficiência para alguns tumores, severos efeitos secundários e a resistência desenvolvida ao tratamento [5]. Para superar estas limitações, desenvolveram-se complexos com outros centros metálicos. Dos metais investigados o ruténio e o cobre têm mostrado ser bastante promissores enquanto potenciais agentes anticancerígenos.



**Figura 1.1** – Metalofármacos de platina em uso clínico: cisplatina, carboplatina e oxaliplatina.

### 1.3-Ruténio

Nos últimos anos houve um grande desenvolvimento dos complexos de ruténio, devido às suas características que o tornam interessante para ser utilizado como agente anticancerígeno. Os complexos de ruténio estão acessíveis em condições fisiológicas em três estados de oxidação (II, III e IV) [6]. O ruténio tem a capacidade de se coordenar a diversos ligandos, e a cinética associada à troca dos mesmos é lenta, o que contribui para a estabilidade dos complexos [7], para além disso o ruténio tende a formar complexos octaédricos, esta geometria possibilita que os complexos de ruténio tenham um maior número de posições de coordenação, quando comparados com os complexos de platina que têm geometria quadrangular plana, apresentando por isso modos de acção e reactividade diferentes que os apresentados pela cisplatina [8].

O ruténio tem ainda a capacidade de se ligar a biomoléculas, como a albumina e a transferrina, duas proteínas que têm papéis importantes na distribuição e transporte de fármacos. A albumina é a proteína mais abundante na corrente sanguínea e tem como função o transporte de fármacos e de ácidos gordos, para além disso, sabe-se que se acumula preferencialmente nas células cancerígenas, o que pode ser uma vantagem para os complexos de ruténio, uma vez que estes podem ser transportados por esta proteína, e assim alcançar as células cancerígenas [8]. A transferrina, por ter a capacidade de transportar o ferro é uma proteína muito importante para o crescimento e divisão celular. A rápida divisão celular que ocorre nas células cancerígenas origina uma constante necessidade de ferro e nutrientes, como tal, nestas células está presente um elevado número de receptores de transferrina. Este metal tem a capacidade de mimetizar o ferro na ligação à transferrina, esta ligação faz com o ruténio possa ser transportado por este tipo de células [9].

Entre os diversos complexos de ruténio desenvolvidos existem dois complexos inorgânicos de Ru(III) que entraram em estudos clínicos, o NAMI-A e o KP1019 [5].

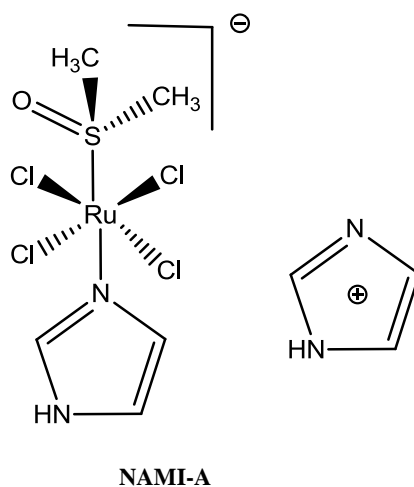
### 1.4-NAMI-A

O NAMI-A ([ImH][*trans*-RuCl<sub>4</sub>(DMSO)Im]) (Im = imidazole) (figura 1.2) foi o primeiro complexo de ruténio(III) a completar a fase I dos ensaios clínicos, encontrando-se, neste momento na fase II [10,11].

Este complexo possui uma grande eficiência na inibição de metástases, porém mostrou possuir uma baixa actividade em tumores primários [10].

Em condições fisiológicas (pH 7,4) este complexo é muito instável e após entrar no organismo sofre hidrólise, perdendo iões cloreto, que são substituídos por moléculas de água. Este complexo

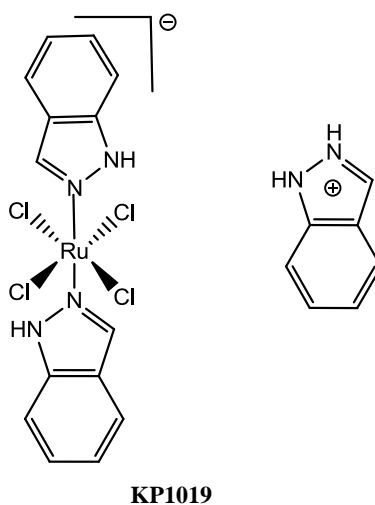
funciona como um pró-fármaco, ou seja, o ambiente redutor presente no plasma sanguíneo pode reduzir os complexos de Ru(III), para a sua formulação activa, Ru(II), ou seja, em solução podem-se encontrar complexos nestes dois estados de oxidação [12].



**Figura 1.2** - Estrutura do composto inorgânico de ruténio(III) NAMI-A, [ImH][*trans*-RuCl<sub>4</sub>(DMSO)Im].

### 1.5-KP1019

Outro complexo de ruténio(III) que entrou em ensaios clínicos foi o KP1019 ([InH][*trans*-RuCl<sub>4</sub>In<sub>2</sub>]) (In = indazólio) (figura 1.3). Este complexo mostrou ser bastante citotóxico em vários tumores primários, em especial no carcinoma colo-rectal [13]. Actua como um pró-fármaco que entra no organismo como Ru(III) e é reduzido a Ru(II) no plasma sanguíneo devido ao carácter redutor do mesmo [13]. Pensa-se que o modo de acção deste complexo esteja associado à interação com as proteínas histonas (proteínas presentes no nucleossoma), o que faz com que sejam libertadas proteases da mitocôndria levando à morte por apoptose [13]. O KP1019 liga-se à albumina e à transferrina podendo estas proteínas servir de meio de transporte para as células cancerígenas [13].



**Figura 1.3** - Estrutura do composto inorgânico de ruténio(III) KP1019, [InH][*trans*-RuCl<sub>4</sub>In<sub>2</sub>].



## 1.6-Complexos Organometálicos

Os compostos inorgânicos apresentam alguns problemas relacionados com a sua instabilidade, os compostos organometálicos aparecem como uma alternativa por serem mais estáveis, apresentarem uma grande diversidade estrutural e uma variedade de modos de ligação.

Os ligandos areno e ciclopentadienilo, coordenados ao metal pelo carbono, podem actuar quer como doadores quer como aceitadores de electrões o que pode alterar o comportamento aceitador/doador dos outros ligandos do complexo e consequentemente, a reactividade, a estabilidade e a actividade citotóxica do complexo formado [14].

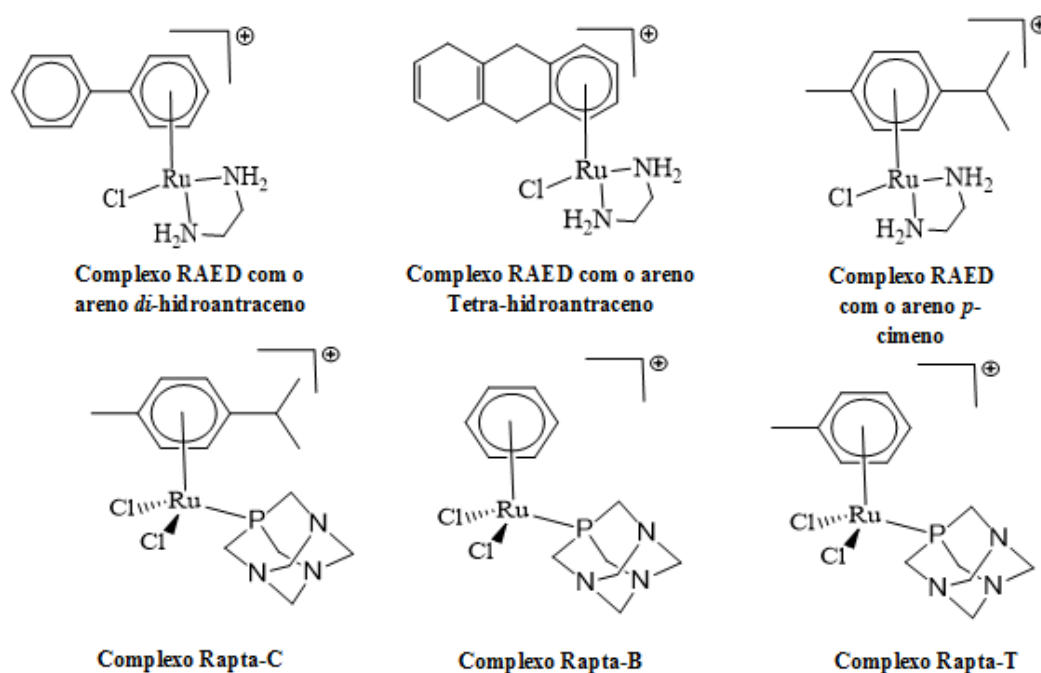
Entre os complexos organometálicos de ruténio(II) existem algumas famílias já bastante exploradas contendo os fragmentos “ruténio-( $\eta^6$ -areno)” e “ruténio-( $\eta^5$ -ciclopentadienilo)”.

### 1.6.1-Ruténio-Areno

Os complexos RAED e RAPTA, são as duas famílias de complexos organometálicos contendo o fragmento “ruténio-( $\eta^6$ -areno)” mais estudadas, embora apresentem semelhanças a nível estrutural, apresentam diferenças nos seus modos de acção.

A família de complexos RAED tem como fórmula geral  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-areno})(\text{X})(\text{Y})(\text{Z})]^+$  ( $\eta^6$ -areno = benzeno ou benzeno substituído; X e Y = etilenodiamina ou N – etililenodiamina e Z = halogeneto, acetonitrilo) (figura 1.4) [15]. Os arenos, como o bifenil, o dihidroantraceno e o tetrahidroantraceno, que estão coordenados em eta-6 ao ruténio, possibilitam a coordenação ao ADN através do N7 da guanina [16]. Estes complexos apresentam valores de  $\text{IC}_{50}$  na ordem dos micromolar para as linhas celulares tumorais humanas do carcinoma do ovário sensível e resistente à cisplatina (A2789, A2780cisR) [16].

Nos complexos RAPTA, de forma geral  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-areno})(\text{PTA})\text{X}_2]$  (PTA = 1,3,5-triaza-7-fosfoadamantano, X =  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{I}^-$ ), o ruténio encontra-se coordenado em eta-6 ( $\eta^6$ ) a um areno que estabiliza o estado de oxidação II do ruténio, a um ligando PTA que confere solubilidade em meio aquoso e geralmente a dois iões cloreto. O primeiro complexo RAPTA a ser reportado na literatura foi o  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})\text{Cl}_2(\text{PTA})]$  (RAPTA-C) [14]. A família RAPTA mostrou ser eficiente contra as metástases apesar de não serem muito activos nos tumores primários. O mecanismo de acção dos complexos RAPTA de fórmula  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})\text{X}_2(\text{PTA})]$  (X =  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{I}^-$ ) está relacionado com proteínas histonas, proteínas importantes na regulação de genes [16].



**Figura 1.4** – Exemplos de complexos de Ru(II) contendo o fragmento  $\eta^6$ -areno, das famílias RAED (em cima) e RAPTA (em baixo) com propriedades anti-tumorais.

### 1.6.2-Ruténio Ciclopentadienilo

Os complexos organometálicos contendo fragmento “ruténio-( $\eta^5$ -ciclopentadienilo)” (RuCp) têm atraído bastante atenção nos últimos anos, devido à estabilidade da sua ligação [17] e aos bons resultados de citotoxicidade que se têm obtido.

Meggers e os seus colaboradores desenvolveram vários complexos de ruténio(II) com o fragmento “Ru-( $\eta^5$ -ciclopentadienilo)” (figura 1.5) contendo a estaurosporina, um inibidor enzimático selectivo para as proteínas cinases GSK3 e Pim1 [18,19]. Observou-se que o complexo organometálico apresenta uma maior selectividade para as proteínas cinases GSK3 e Pim1 que a estaurosporina livre [20]. Uma vez que o complexo de ruténio contém um ligando doador- $\pi$  (piridocarbazolo), existe uma forte possibilidade do mesmo se coordenar às várias proteínas cinases existentes no organismo e assim funcionar como inibidor das mesmas. Este complexo é capaz de mimetizar o ATP ligando-se às proteínas no local de ligação do mesmo. Dado que no genoma humano existem cerca de 500 proteínas cinases, existe uma forte possibilidade dos complexos se coordenarem a estas proteínas [20].

No grupo de Química Organometálica da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, o fragmento “ruténio-( $\eta^5$ -ciclopentadienilo)” também tem sido alvo de bastante investigação. Os compostos sintetizados de forma geral  $[\text{Ru}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5)(\text{P})(\text{L})][\text{X}]$  (onde P = fosfano mono- ou bidentado; L = ligando heteroaromático mono- ou bidentado; X =  $\text{CF}_3\text{SO}_3^-$  e  $\text{PF}_6^-$ ) apresentaram valores de citotoxicidade na ordem dos micro- e nanomolar em diversas linhas celulares cancerígenas humanas, como por exemplo, carcinoma do pâncreas (MiaPaca), leucemia (HL-60), carcinoma do ovário

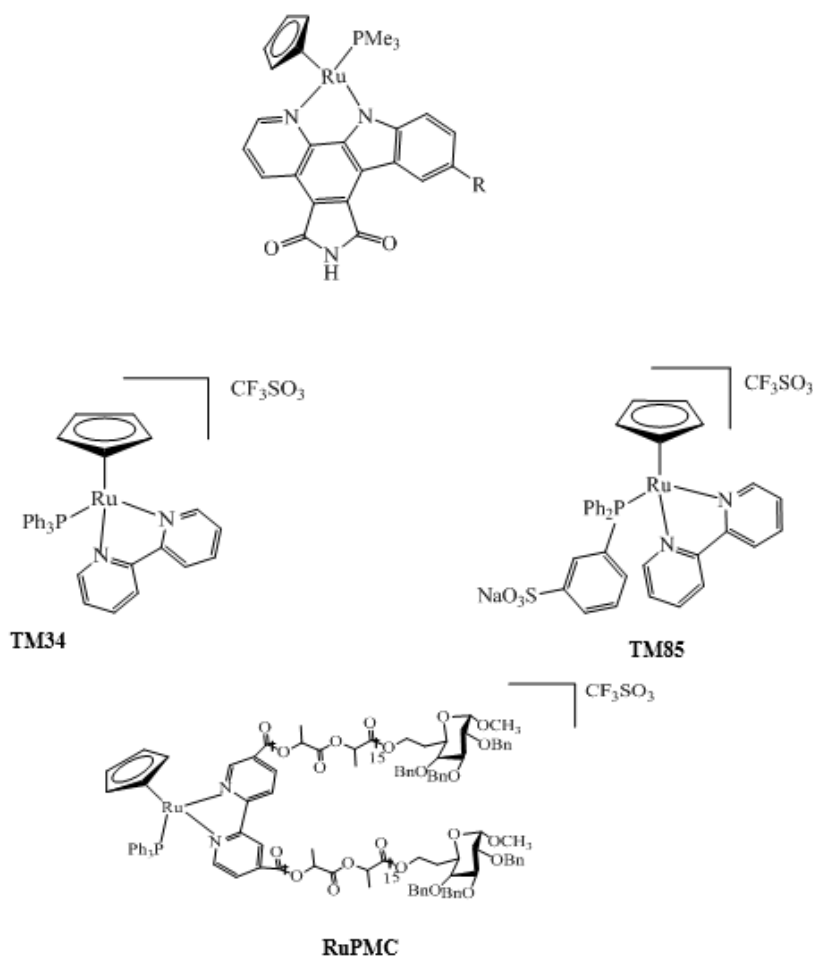
sensível e resistente à cisplatina (A2780, A2780cisR), carcinoma da mama (MCF7, MDA-MB-231) e do carcinoma da próstata (PC3) [21-25].

Dos complexos sintetizados destaca-se o complexo  $[\text{Ru}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5)(2,2'\text{-bipy})(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3]$  (TM34) (figura 1.5). Este complexo apresentou elevada citotoxicidade em diversas linhas celulares tumorais humanas, como por exemplo HL-60, A2780, PC3 e MCF7. Além disso, mostrou ser 15 vezes mais activo na linha celular A2780 do que a cisplatina, o metalofármaco usado clinicamente. O TM34 mostrou ser o inibidor mais eficiente da PARP-1, em comparação com os compostos de ruténio publicados [26,27]. Estudos de fluorescência mostram interacção entre a albumina e o TM34, o que poderá indicar que este complexo possa ser transportado no organismo por esta proteína, podendo esta ser uma via para aumentar a selectividade para os tecidos tumorais [27]. Em muitos casos esta ligação altera a citotoxicidade, fazendo com que os complexos deixem de ser activos, o que não ocorre com o TM34, uma vez, que os valores de  $\text{IC}_{50}$  do complexo se mantêm após ligação à albumina [27].

Devido aos resultados promissores obtidos para o TM34 e à grande importância da solubilidade em água em qualquer tipo de terapia, foi desenvolvido o complexo  $[\text{RuCp}(m\text{TPPMSNa})(2\text{-}2'\text{-bipy})][\text{CF}_3\text{SO}_3]$  (TM85) (figura 1.5), a versão solúvel em água do TM34. O TM85 apresentou resultados de citotoxicidade na ordem dos micromolar numa vasta linha de células tumorais humanas, como por exemplo A2780, A2780cisR, MCF7, PC3, MDA-MB-231 e HT29. Este complexo apresentou valores de  $\text{IC}_{50}$  muito inferiores aos apresentados pela cisplatina. Tal como o seu análogo TM34, mostrou ligar-se à albumina, sendo este um possível veículo de transporte destes complexos na corrente sanguínea [28].

O mecanismo de entrada nas células deste tipo de compostos ocorre por endocitose, no entanto, uma grande percentagem destes compostos fica retido na membrana celular [28]. Observou-se que os complexos TM34 e o TM85 provocaram alterações no complexo de Golgi e na mitocôndria, o que nos indica que o seu modo de acção esteja relacionado com estes organelos [28,29].

No mesmo grupo têm sido desenvolvidos novos compostos organometálicos a partir de complexos que demonstraram ser activos como é o caso do TM34. Com o objectivo de desenvolver um fármaco que se acumule preferencialmente no tumor, foram ligadas macromoléculas (polímeros) ao TM34, criando assim uma nova família de compostos os “RuPMC” (figura 1.5). A vantagem do uso destas macromoléculas é a sua fácil acumulação nas células cancerígenas, uma vez que as estruturas vasculares defeituosas presentes nas células tumorais fazem com que este tipo de complexos possa ficar aprisionado dentro das mesmas (efeito de permeação e retenção melhorada (EPR)). Assim o fármaco poderá ser entregue nos tecidos tumorais sem afectar os tecidos saudáveis [30].



**Figura 1.5** – Alguns complexos de ruténio(II) contendo o fragmento “RuCp” com propriedades anticancerígenas.

## 1.7-Cobre

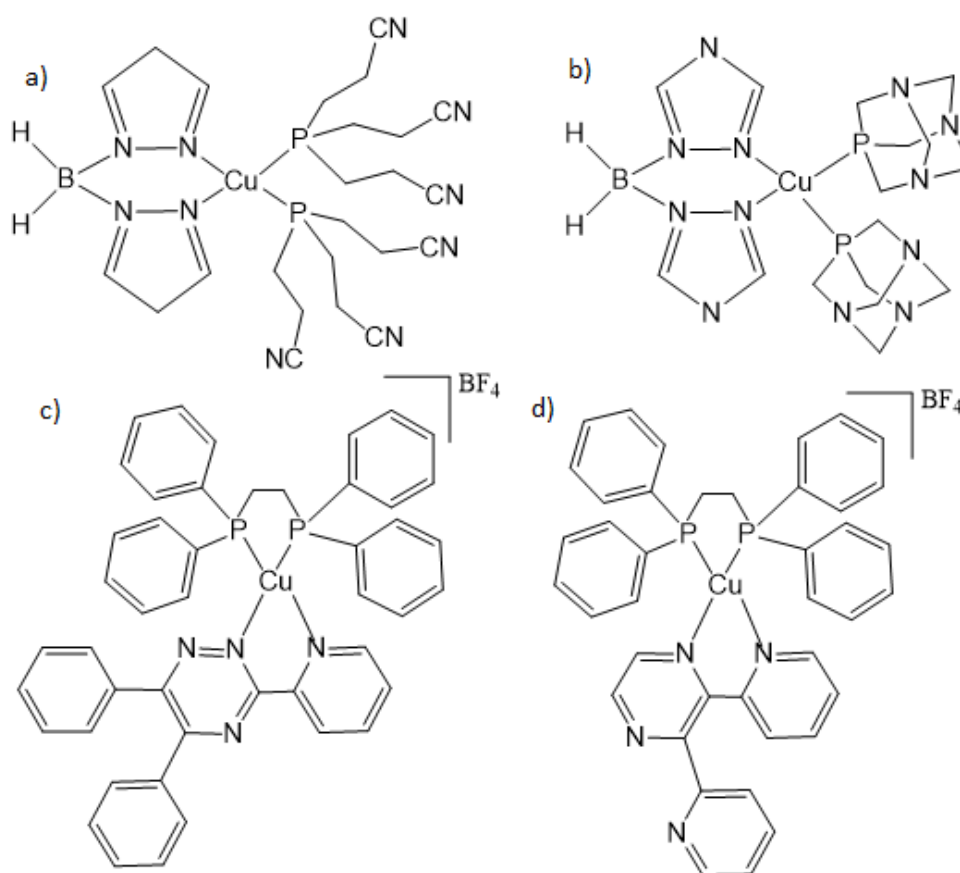
O cobre é um elemento essencial presente nos organismos vivos muito importante numa variedade de processos biológicos, tais como transporte de oxigénio, transferência de electrões e reacções redox [31]. Estudos revelam que o cobre está envolvido em diversos processos relacionados com a proliferação do cancro, como por exemplo a angiogénese (crescimento de novos vasos sanguíneos a partir dos já existentes) [32]. Este metal em excesso é um co-factor da angiogénese, sendo que, já foram encontrados elevados níveis de cobre em diferentes tipos de cancro [32]. Sendo o cobre um elemento endógeno pensa-se que este possa ultrapassar algumas limitações apresentadas pelos complexos de Pt(II) como a sua elevada toxicidade e a resistência adquirida [32].

Vários complexos de cobre(I) foram desenvolvidos e reportados, e alguns demonstraram ter actividade anticancerígena apresentando valores de IC<sub>50</sub> na ordem dos micromolar, em diversas linhas celulares cancerígenas como o adenocarcinoma colorectal (HCT-15), o adenocarcinoma hepatocelular do fígado (HepG2) e da leucemia humana (HL-60) (figura 1.6 a e b) [32,33].

Pensa-se que a entrada dos compostos de cobre nas células ocorra na forma de Cu(I), os complexos de cobre(II) são reduzidos devido ao ambiente redutor presente no plasma sanguíneo [34], por transportadores específicos de cobre (hCtr). A actividade anticancerígena destes complexos pode estar associada a diferentes mecanismos, alguns dos complexos têm a habilidade de produzir espécies de oxigénio reactivas (ROS), tais como o radical hidróxilo (OH<sup>•</sup>). O Cu(II) é reduzido a Cu(I) pelo anião superóxido (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) e em seguida consegue produzir espécies de oxigénio reactivas (radical OH<sup>•</sup>),

acredita-se que este radical pode provocar danos no ADN nas células, o que pode conduzir à morte celular [31]. Outro mecanismo proposto para a actividade dos complexos de cobre está relacionado com a capacidade que estes complexos têm para cortar a hélice do ADN, este mecanismo foi já provado para alguns complexos de Cu(I) [35].

No grupo de Química Organometálica da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, também se tem investigado sobre as potencialidades do Cu(I) como agente anticancerígeno. Os complexos sintetizados de forma geral  $[\text{Cu}(\text{dppe})\text{Y}][\text{BF}_4]$  (onde Y = 5,6-difenil-3-(2-piridil)pirazina; 2,3-bis(piridil)pirazina; bipyridina; 2,2-bipidil-4,4-dimetil) (figura 1.6 c) e d)), mostraram ser bastante promissores para a terapia do cancro, com valores de citotoxicidade na gama dos micromolar obtidos em três linhas celulares A2780, A2780cisR e MCF7 [36].



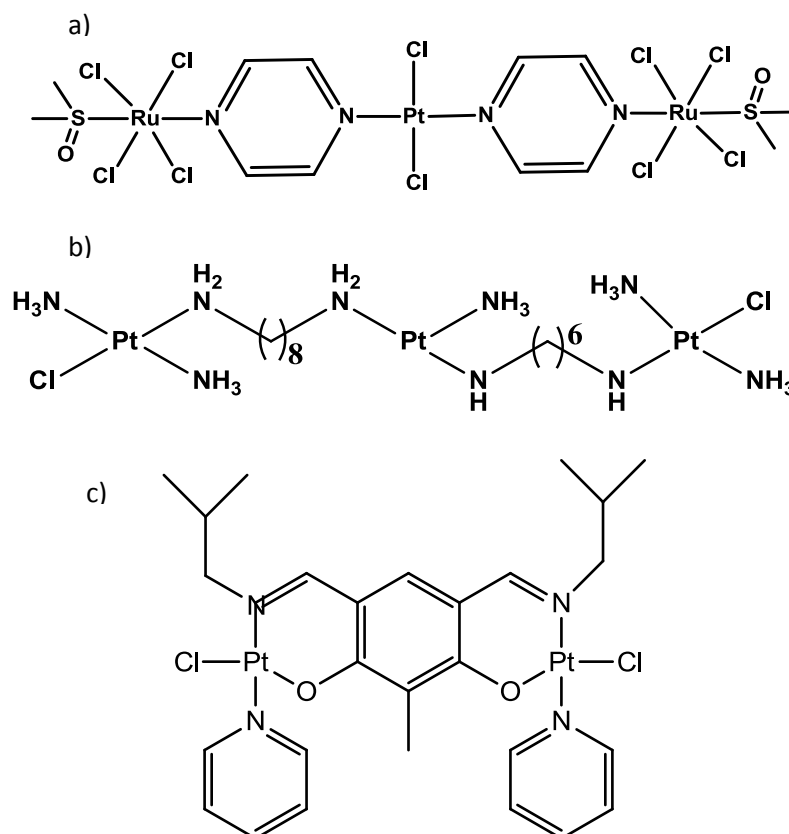
**Figura 1.6** - Exemplos de complexos de cobre(I) com actividade anticancerígena.

## 1.8-Complexos Bimetálicos

O *design* de complexos heteronucleares baseia-se na hipótese que a presença de dois metais activos na mesma molécula possa melhorar a captação celular e a actividade citotóxica. A possível interacção com diferentes alvos biológicos faz com que estes complexos sejam bastante promissores para a terapia do cancro [37].

Nos últimos anos vários complexos poliméricos de ruténio-platina, platina-platina e platina-ouro foram sintetizados (figura 1.7 a) e b)) e avaliados na linha celular cancerígena humana A2780cisR apresentando valores de IC<sub>50</sub> da ordem dos micromolar. No entanto, estes complexos não mostraram selectividade para as células cancerígenas sobre as células saudáveis [37]. Um complexo de platina polimetálico (figura 1.7 b)) entrou em estudos clínicos, abandonando-os na fase II [37].

Para além dos complexos poliméricos têm sido desenvolvidos complexos binucleares como potenciais agentes anticancerígenos. O complexo binuclear de platina representado na figura 1.7 c), apresentou resultados de citotoxicidade na ordem dos micromolar em duas linhas celulares cancerígenas HepG2 e MCF-7 [38].



**Figura 1.7** – Alguns complexos poliméricos e bimetalicos de ruténio-platina e platina-platina com actividade citotóxica.

## 1.9-Enquadramento do presente trabalho

Com o intuito de desenvolver complexos que colmatem a ineficiência dos fármacos actualmente em uso clínico, decidiu-se sintetizar complexos bimetalicos tendo como centros metálicos o ruténio e o cobre. Escolheram-se estes dois metais face aos resultados apresentados pelos mesmos no grupo de Química Organometálica da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa. A presença de dois metais na mesma estrutura baseia-se na ideia que o composto actue em diferentes alvos biológicos em simultâneo, e com isto, possa melhorar a sua captação celular e a actividade citotóxica.

Para além da síntese e caracterização de novos complexos, durante este projecto de mestrado foi possível acompanhar o processo industrial de alguns fármacos já em uso clínico, na empresa Iberfar, Indústria Farmacêutica, SA. Este estágio de um mês permitiu o contacto com a indústria farmacêutica, possibilitando assistir a todas as etapas necessárias para produção de um fármaco desde a chegada da matéria-prima ao embalamento do produto final.

Este trabalho de mestrado possibilitou perceber as diferenças entre os dois estágios, através do contacto com a investigação e a indústria.

---

# Capítulo 2

---

*Síntese e caracterização dos complexos  
mononucleares e binucleares de Cu(I)*



## **2- Síntese e caracterização dos complexos mononucleares e binucleares de Cu(I)**

Na realização deste trabalho procurou-se sintetizar e caracterizar novos complexos binucleares de Cu(I) para posterior avaliação das suas potencialidades enquanto agentes anticancerígenos. Existem vários complexos de cobre reportados na literatura que apresentam actividade citotóxica em diversas linhas celulares tumorais humanas na ordem dos micromolar [32,33,36]. A presença de dois metais na mesma estrutura poderá ter influência na reactividade dos complexos, o que poderá ser uma mais-valia para as suas potencialidades como agentes antitumorais [37,38].

Para a síntese dos novos complexos, utilizou-se como precursor o composto  $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4][\text{BF}_4]$ , cuja síntese foi realizada de acordo com o procedimento descrito por Duward F. Shriver [39], este complexo é relativamente fácil de sintetizar e contém grupos acetonitrilo bastante lábeis, o que facilita a reacção com outros ligandos.

### **2.1-Objectivo**

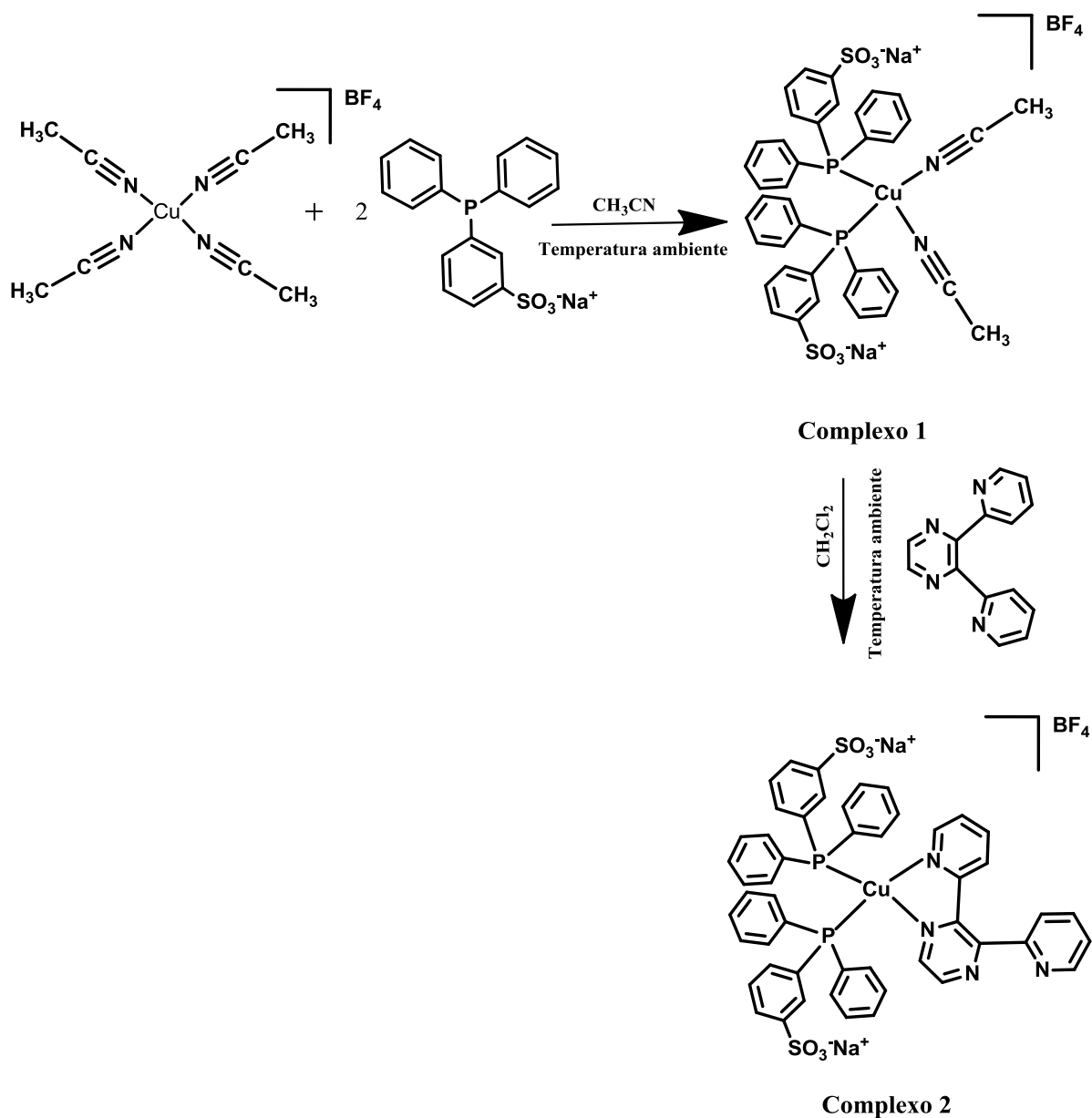
Este trabalho teve como objectivo a síntese e caracterização de complexos binucleares com iões metálicos de cobre (I), para potencial aplicação como agentes anti-tumorais.

Fizeram-se diversas reacções, onde se utilizaram como ligandos o 2,3-Bis(2-piridil)pirazina (dpp) e o 1-1'-carbonildiimidazole (CDI).

Neste capítulo serão discutidas as sínteses e a caracterização dos complexos sintetizados.

### **2.2- Sínteses dos complexos mononucleares de Cobre(I)**

As sínteses destes complexos foram realizadas em acetonitrilo ou diclorometano, à temperatura ambiente, sob agitação, por abstracção de dois grupos acetonitrilo do precursor  $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4][\text{BF}_4]$ .



**Esquema 2.1** - Esquema reaccional da síntese dos complexos [Cu(*m*TPPMSNa)<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>CN)<sub>2</sub>][BF<sub>4</sub>] (1) e [Cu(*m*TPPMSNa)<sub>2</sub>(dpp)][BF<sub>4</sub>] (2).

## 2.2.1-Caracterização dos compostos

Os complexos foram caracterizados pelas técnicas espectroscópicas de FT-IR, <sup>1</sup>H RMN, <sup>31</sup>P RMN, <sup>13</sup>C RMN, cosy, HMBC, HSQC e UV-vis e também por análises elementares. Este tópico procura de forma clara realçar e discutir os resultados obtidos através de cada técnica.

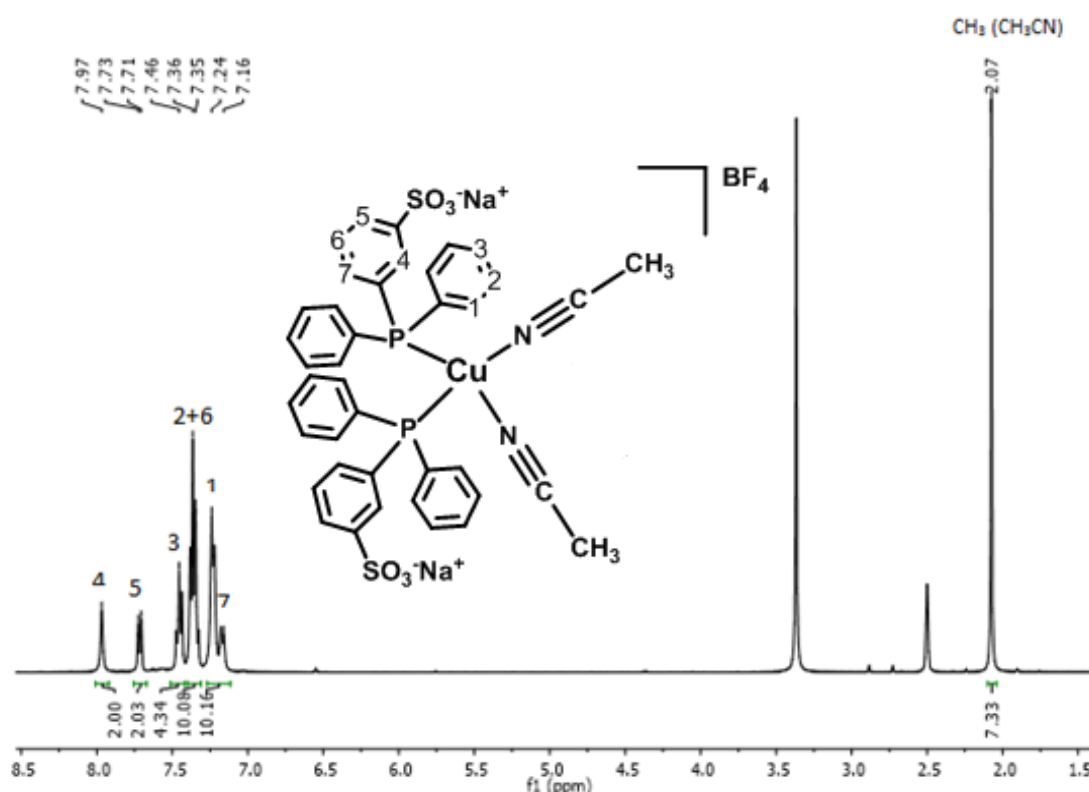
### 2.2.1.1-Espectroscopia de Infravermelho

Nos espectros de infravermelho dos complexos [Cu(*m*TPPMSNa)<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>CN)<sub>2</sub>][BF<sub>4</sub>] (1) e [Cu(*m*TPPMSNa)<sub>2</sub>(dpp)][BF<sub>4</sub>] (2) (figuras I e II do anexo I) observam-se as bandas correspondentes à

ligação carbono-hidrogénio ( $\nu_{C-H}$ ) dos anéis aromáticos do fosfano a aproximadamente  $3000\text{ cm}^{-1}$ , as bandas relativas às ligações duplas carbono-carbono ( $\nu_{C=C}$ ) entre  $1600$  e  $1450\text{ cm}^{-1}$ , as bandas do contra-íão  $\text{BF}_4^-$  ( $\nu_{B-F}$ ) por volta dos  $1035\text{ cm}^{-1}$  e  $694\text{ cm}^{-1}$ , bem como a presença da banda relativa ao grupo  $\text{SO}_3^-$  do trifenilfosfano sulfonado a  $\sim 1250\text{ cm}^{-1}$ . No espectro do complexo  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  (1), observa-se ainda a banda correspondente aos grupos acetonitrilo ( $\delta_{C-H}$ ) a  $\sim 1390\text{ cm}^{-1}$ , no entanto, não foi possível identificar as bandas relativas à ligação nitrogénio-carbono destes grupos, uma vez que estas aparecem na mesma zona que o dióxido de carbono atmosférico ( $\text{CO}_2$ ), e ao fazer o branco com KBR o pico correspondente ao acetonitrilo também desaparece. No espectro do complexo  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\text{dpp})][\text{BF}_4]$  (2) entre  $3000$  e  $2880\text{ cm}^{-1}$  observam-se as bandas correspondentes à ligação carbono-hidrogénio ( $\nu_{C-H}$ ) do ligando dpp, bem como a banda relativa à ligação carbono-azoto ( $\delta_{C-N}$ ) do ligando dpp, a  $1630\text{ cm}^{-1}$ .

### 2.2.1.2-Espectroscopia de $^1\text{H}$ RMN

No espectro de protão do complexo  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  (1) (figura 2.1) é possível observar os sinais correspondentes ao trifenilfosfano sulfonado na zona dos aromáticos, entre  $7,97$  e  $7,16\text{ ppm}$ , e o sinal relativo aos grupos  $\text{CH}_3$  dos acetonitrilos a  $2,07\text{ ppm}$ , a atribuição dos sinais foi conseguida recorrendo à análise do espectro de cosy (figura VIII do anexo II).

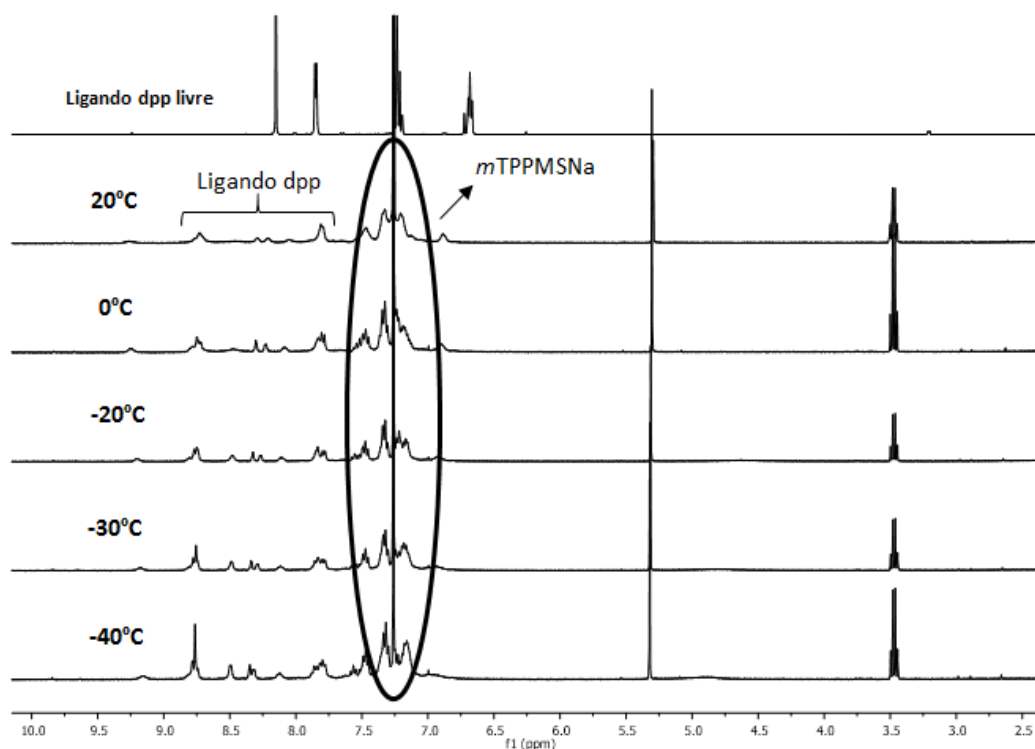


**Figura 2.1** - Espectro  $^1\text{H}$  RMN do complexo  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  (1) em dimetilsulfóxido- $d_6$ .

No espectro de protão do complexo  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\text{dpp})][\text{BF}_4]$  (2), os sinais não se encontraram bem definidos impossibilitando a identificação inequívoca de todos os sinais do complexo. Foi necessário realizar experiências a temperaturas mais baixas ( $0^\circ\text{C}$ ,  $-20^\circ\text{C}$ ,  $-30^\circ\text{C}$  e  $-40^\circ\text{C}$ ), para estudar o comportamento do complexo em solução. Ao baixar a temperatura as ligações dos diferentes grupos tornam-se mais “rígidas” limitando o seu movimento, evitando, que dois sinais diferentes apareçam sobrepostos no espectro, ocorrendo a descoalescência dos mesmos. A razão pela

qual os sinais não aparecerem bem definidos à temperatura ambiente, pode ser explicada pela fluxionalidade do complexo, ou seja, as ligações existentes no complexo estão em constante movimento. Quando se analisa o RMN à temperatura ambiente, os diferentes grupos da molécula podem parecer idênticos, o que é definido como processo de inter-troca dinâmica de prótons [40].

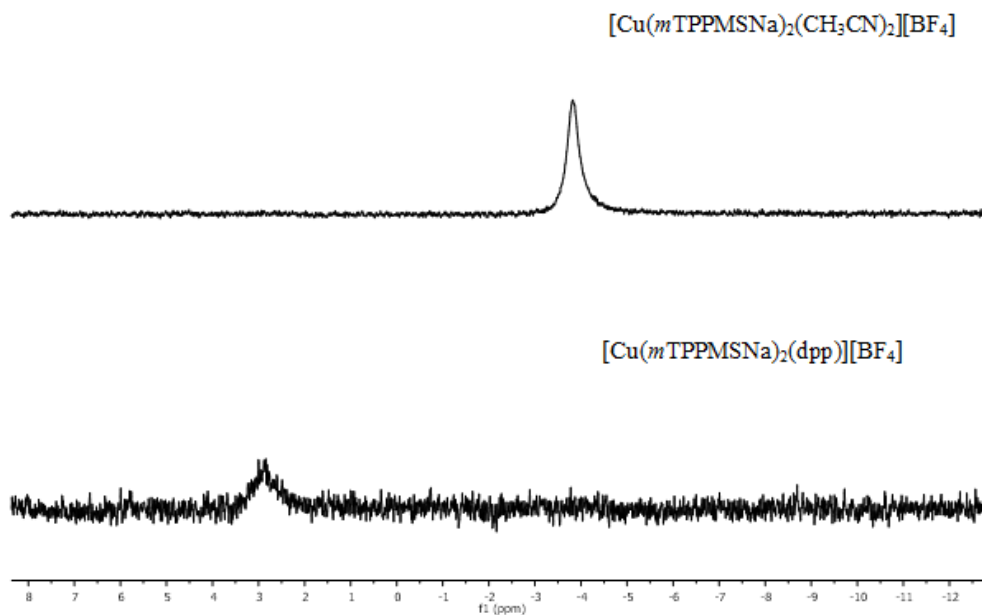
Na figura 2.2 é possível observar a sobreposição dos espectros de próton do complexo  $[\text{Cu}(\text{mTPPMSNa})_2(\text{dpp})][\text{BF}_4]$  (2) a diferentes temperaturas (20°C, 0°C, -20°C, -30°C e a -40°C) e do ligando livre dpp a 20°C. Ao baixar a temperatura os sinais correspondentes aos diferentes grupos do complexo começam a ficar mais definidos e observou-se um maior número de sinais do que o esperado. No entanto, pelo espectro observa-se que esses sinais não se devem à presença de ligando livre. Mesmo a -40°C o espectro continua a não estar muito definido devido à fluxionalidade do complexo o que pode explicar a presença de um maior número de sinais que o esperado.



**Figura 2.2** – Sobreposição dos espectros de  $^1\text{H}$  RMN d do complexo  $[\text{Cu}(\text{mTPPMSNa})_2(\text{dpp})][\text{BF}_4]$  a diferentes temperaturas (20°C, 0°C, -20°C, -30°C, -40°C) e do ligando dpp livre a 20°C, em clorofórmio-d.

### 2.2.1.3-Espectroscopia de $^{31}\text{P}$ RMN

O complexo  $[\text{Cu}(\text{mTPPMSNa})_2(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  (1) apresenta um sinal relativo ao trifenilfosfano sulfonado a -3,82 ppm (figura 2.3), que desblindou 2,8 ppm em relação ao fosfano livre (-6,65 ppm). O complexo  $[\text{Cu}(\text{mTPPMSNa})_2(\text{dpp})][\text{BF}_4]$  (2) apresenta um sinal correspondente ao mesmo fosfano a 2,84 ppm (figura 2.3), este sinal desblindou cerca de 6,7 ppm em relação ao seu precursor. Em ambos os compostos as desblindagens devem-se à doação de electrões que ocorre do fósforo para o metal, no complexo  $[\text{Cu}(\text{mTPPMSNa})_2(\text{dpp})][\text{BF}_4]$  (2) a entrada do ligando dpp, faz com que o trifenilfosfano sulfonado fique mais fraco electronicamente, por consequência, o sinal correspondente ao fosfano fica mais desblindado.



**Figura 2.3** - Espectros de  $^{31}\text{P}$  RMN dos complexos  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  (1) e  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\text{dpp})][\text{BF}_4]$  (2) em clorofórmio-*d*.

#### 2.2.1.4-Espectroscopia de $^{13}\text{C}$ RMN

No espectro  $^{13}\text{C}$  RMN do complexo  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  (1) (figura 2.4), é possível observar os picos de carbonos correspondentes aos trifenilfosfanos sulfonados e aos grupos acetonitrilo.

Não foram realizados os espectros de carbono para o complexo  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\text{dpp})][\text{BF}_4]$  (2), uma vez que através do estudo de próton a baixa temperatura verificou-se um número de sinais superiores ao esperado, e inicialmente pensou-se que o complexo estava impuro.

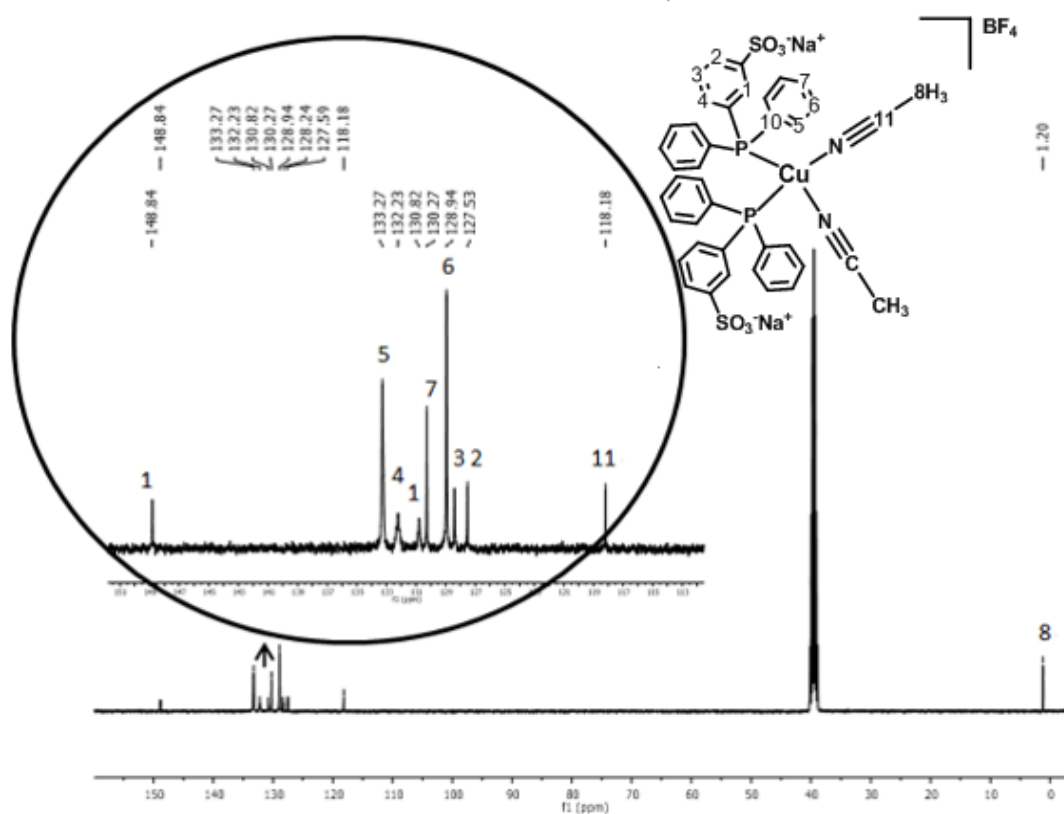
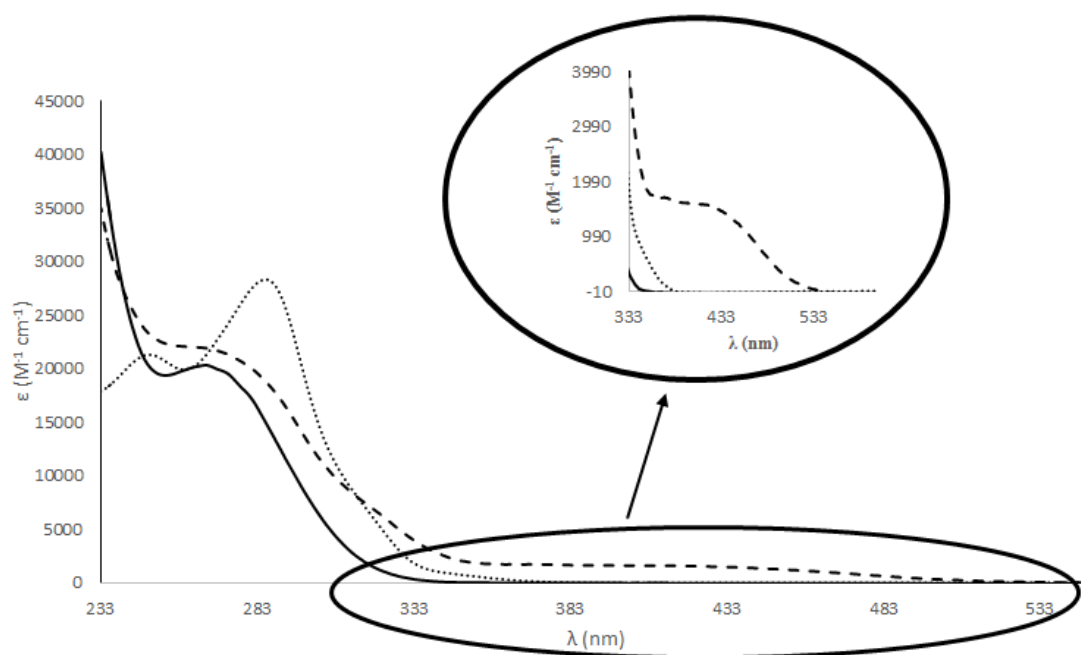


Figura 2.4 – Espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN do complexo  $[\text{Cu}(\text{mTPPMSNa})_2(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  (1) em dimetilsulfóxido- $d_6$ .

### 2.2.1.5-Espectros electrónicos de Ultravioleta-visível

Os espectros de UV-vis dos complexos  $[\text{Cu}(\text{mTPPMSNa})_2(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  (1) e  $[\text{Cu}(\text{mTPPMSNa})_2(\text{dpp})][\text{BF}_4]$  (2) foram realizados em soluções de diclorometano com concentrações entre  $1 \times 10^{-3}$  a  $4 \times 10^{-3}$  mol/L, o ligando livre 2,3-bis(2-piridil)pirazina (dpp) foi estudado nas mesmas condições.

No espectro de UV-vis do complexo  $[\text{Cu}(\text{mTPPMSNa})_2(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  (1) (figura 2.5), é possível observar uma banda de absorção na região do UV por volta dos 275 nm atribuída a transições electrónicas do trifenilfosfano sulfonado, no espectro de absorção do complexo  $[\text{Cu}(\text{mTPPMSNa})_2(\text{dpp})][\text{BF}_4]$  (2) é possível observar uma banda de transferência de carga do metal para o ligando (MLCT) a 409 nm e também um ombro a aproximadamente 264 nm relativo ao composto de partida e às transições  $\pi$ - $\pi^*$  do ligando.



**Figura 2.5** - Espectro do UV-vis dos complexos  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  (1) (—) e  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\text{dpp})][\text{BF}_4]$  (2) (---) e do ligando dpp livre (····) em diclorometano.

### 2.2.1.6-Análises elementares

Esta análise ao quantificar os elementos que formam o complexo permite determinar a pureza do composto, e/ou confirmar a estrutura química proposta.

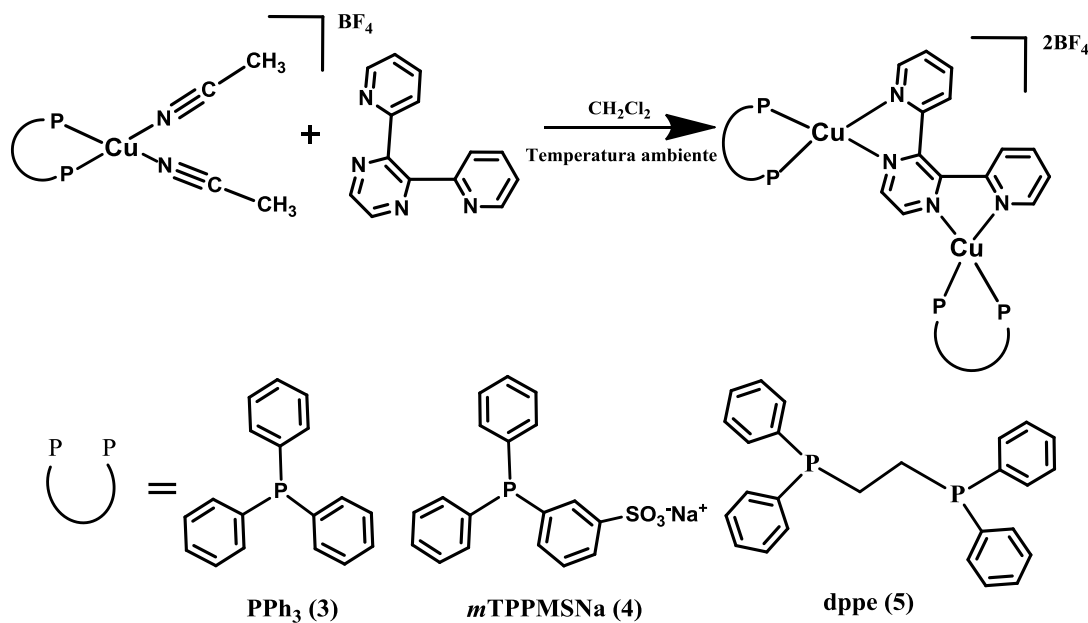
Na tabela 2.1 encontram-se as percentagens teóricas e experimentais dos átomos de carbono, azoto, hidrogénio e enxofre. Verificam-se que os resultados obtidos não estão em concordância com a formulação proposta, uma vez que os valores experimentais diferem dos valores teóricos. No caso do complexo  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  (1) devido à labilidade dos acetonitrilos, os mesmos podem ter saído do complexo [36], o que explica a baixa percentagem de átomos de azoto, no entanto observou-se pela análise dos espectros de RMN de protão e carbono que o complexo se encontra puro. No complexo  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\text{dpp})][\text{BF}_4]$  (2), terão de ser feitos mais estudos para se perceber o aparecimento do número de sinais superiores ao esperado, como foi observado pelo espectro de protão do complexo.

**Tabela 2.1**- Percentagem de C, H, N e S determinada por análise elementar aos complexos  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  (1) e  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\text{dpp})][\text{BF}_4]$  (2).

Complexo		C	H	N	S	
1	[Cu( <i>m</i> TPPMSNa) <sub>2</sub> (CH <sub>3</sub> CN) <sub>2</sub> ][BF <sub>4</sub> ]	% Teórico	49,9	3,6	2,9	6,7
		% Experimental	46,5	3,4	< 0,5	6,7
2	[Cu( <i>m</i> TPPMSNa) <sub>2</sub> (dpp)][BF <sub>4</sub> ]	% Teórico	53,9	3,5	5,0	5,8
		% Experimental	54,8	3,9	4,5	7

## 2.3-Sínteses dos complexos binucleares Cobre(I) – Cobre (I)

As sínteses dos complexos binucleares cobre(I)-cobre(I) foram realizadas em diclorometano, à temperatura ambiente, sob agitação, por abstração dos grupos acetonitrilo aos complexos precursores,  $[\text{Cu}(\text{P})(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  (onde  $\text{P} = 2\text{PPh}_3$ ,  $m\text{TPPMSNa}$  ou  $\text{dppe}$ ), que foram substituídos pelo ligando 2,3-bis(2-piridil)pirazina ( $\text{dpp}$ ), este ligando contém quatro átomos de azoto o que possibilitando a formação de um complexo binuclear.



**Esquema 2.2** - Esquema reaccional da síntese dos complexos  $[(\text{PPh}_3)_2\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2][\text{BF}_4]_2$  (3),  $[(m\text{TPPMSNa})_2\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2][\text{BF}_4]_2$  (4) e  $[(\text{dppe})\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{dppe})][\text{BF}_4]_2$  (5).

### 2.3.1- Caracterização dos compostos

Os complexos foram caracterizados pelas técnicas espectroscópicas de FT-IR,  $^1\text{H}$  RMN,  $^{31}\text{P}$  RMN,  $^{13}\text{C}$  RMN, cosy, HMBC, HSQC e UV-vis e também por análises elementares.

#### 2.3.1.1-Espectroscopia de Infravermelho

A análise dos espectros de infravermelho dos complexos  $[(\text{PPh}_3)_2\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2][\text{BF}_4]_2$  (3),  $[(m\text{TPPMSNa})_2\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2][\text{BF}_4]_2$  (4) e  $[(\text{dppe})\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{dppe})][\text{BF}_4]_2$  (5) (figuras III a V do anexo I) possibilitou a identificação das bandas correspondentes à vibração C-H ( $\nu_{\text{C-H}}$ ) dos fosfanos ( $\text{PPh}_3$ ,  $m\text{TPPMSNa}$  e  $\text{dppe}$ ) e do ligando  $\text{dpp}$  a aproximadamente  $3000\text{ cm}^{-1}$ , das bandas relativas às ligações C=C ( $\nu_{\text{C=C}}$ ) entre  $1600$  e  $1300\text{ cm}^{-1}$  dos grupos fenilo dos fosfanos e do  $\text{dpp}$ , as bandas relativas à ligação carbono-nitrogénio ( $\delta_{\text{NC}}$ ) entre  $1630$  e  $1595\text{ cm}^{-1}$  do ligando  $\text{dpp}$  e as bandas do contra-íão ( $\text{BF}_4$ ) entre  $1056$ - $1033\text{ cm}^{-1}$  e aproximadamente a  $694\text{ cm}^{-1}$ . Para o complexo  $[(m\text{TPPMSNa})_2\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2][\text{BF}_4]_2$  (4) observa-se ainda a presença da banda correspondente ao grupo  $\text{SO}_3^-$  a aproximadamente  $1225\text{ cm}^{-1}$ .



### 2.3.1.2-Espectroscopia de $^1\text{H}$ RMN

O espectro de  $^1\text{H}$  RMN do complexo  $[(\text{PPh}_3)_2\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2][\text{BF}_4]_2$  (3) (figura 2.6) apresenta os sinais correspondentes ao ligando dpp e ao trifenilfosfano. Todos os sinais, relativos ao ligando, desblindam quando comparados com o ligando dpp livre, como é possível verificar nos valores dos desvios químicos apresentados na tabela 2.2. Este efeito pode ser explicado pela retrodoação de electrões existente entre o metal e o ligando, o ligando ao coordenar-se ao metal vai funcionar como doador de electrões, o que faz com que os sinais desblindem quando comparados com o ligando livre. A atribuição dos sinais foi realizada recorrendo à análise do espectro bidimensional cosy apresentado na figura IX do anexo II. Os sinais relativos à trifenilfosfina aparecem um pouco alargados, o que não permitiu que fosse possível fazer a distinção entre os prótons *orto*, *meta* e *para*. Trata-se de um complexo simétrico, uma vez que só se observam cinco sinais correspondentes ao ligando dpp.

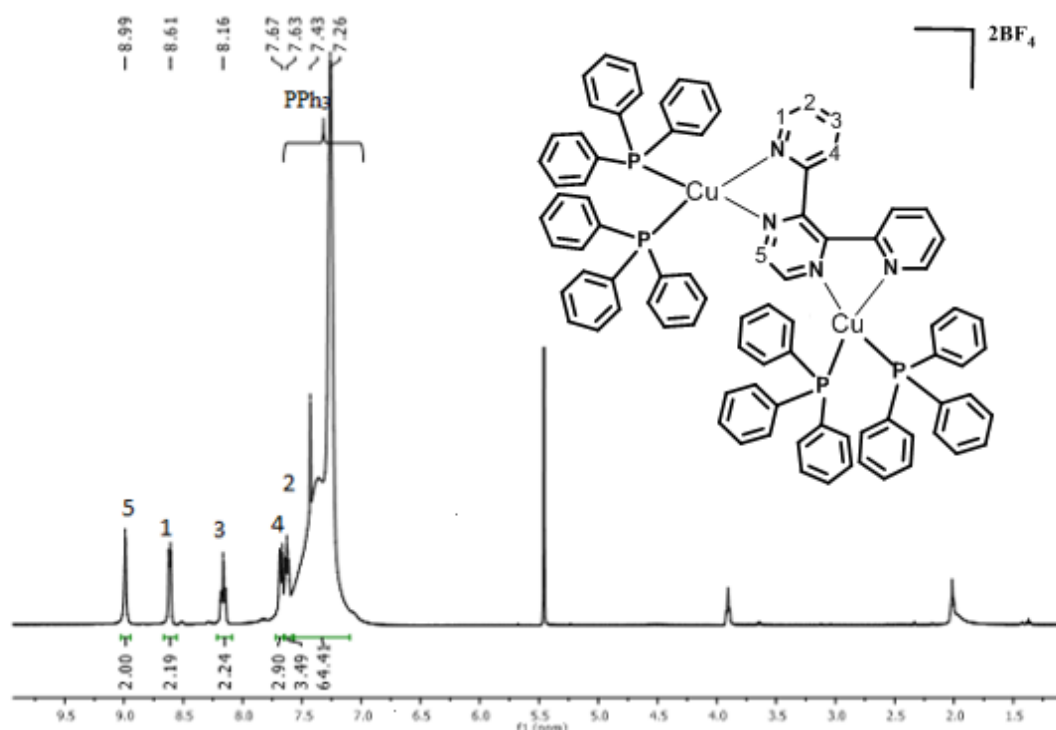
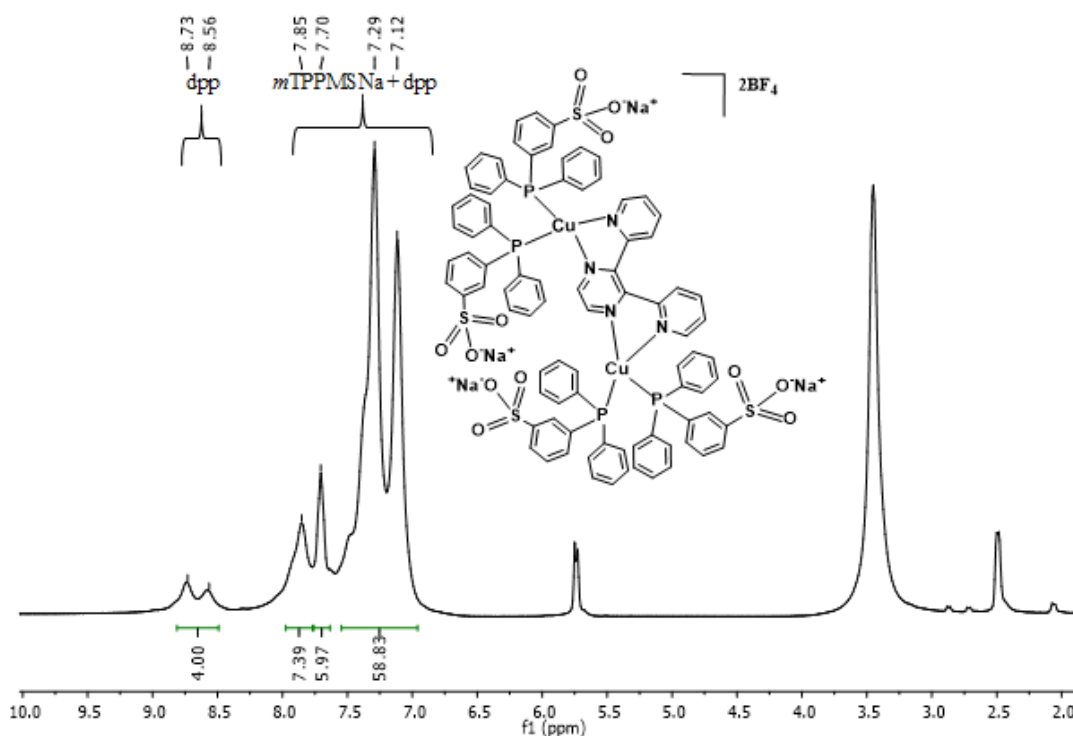


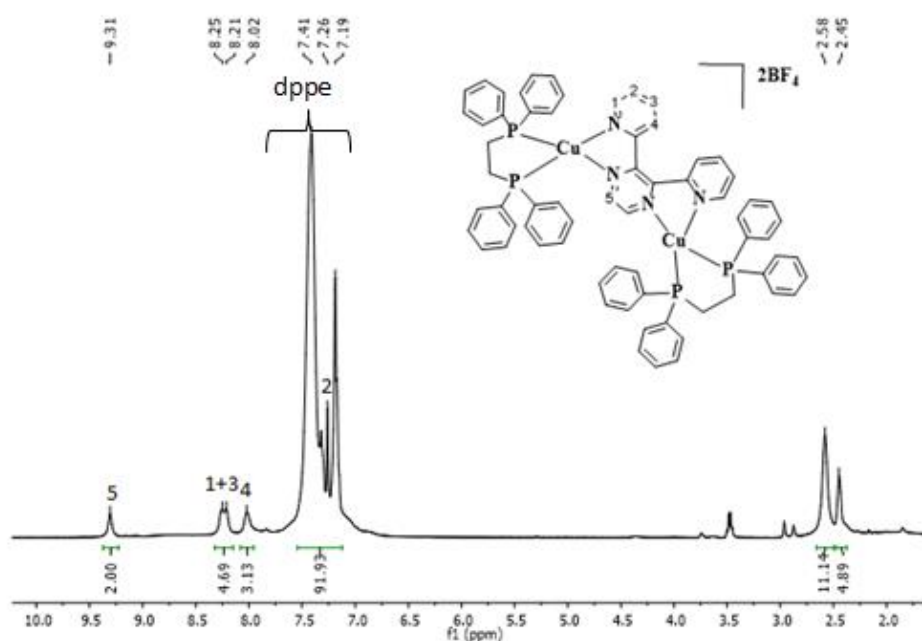
Figura 2.6 - Espectro  $^1\text{H}$  RMN do complexo  $[(\text{PPh}_3)_2\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2][\text{BF}_4]_2$  (3) em clorofórmio-*d*.

Na figura 2.7 é possível observar o espectro de protão do complexo  $[(m\text{TPPMSNa})_2\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2][\text{BF}_4]_2$  (4), onde se observam os sinais relativos ao ligando dpp (8,73–8,56 ppm), para além destes sinais o mesmo ligando apresenta sinais da zona do trifenilfosfano sulfonado. O espectro bidimensional cosy obtido não permite tirar conclusões, uma vez que, as interacções não aparecem bem definidas, impossibilitando a atribuição dos prótons do ligando e do trifenilfosfano sulfonado. Os espectros bidimensionais deverão ser realizados a baixas temperaturas de modo a ser possível fazer a atribuição dos prótons deste complexo.



**Figura 2.7** - Espectro  $^1\text{H}$  RMN do complexo  $[(m\text{TPPMSNa})_2\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2][\text{BF}_4]_2$  (4) em dimetilsulfóxido- $d_6$ .

Pela análise do espectro de próton do complexo  $[(\text{dppe})\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{dppe})][\text{BF}_4]_2$  (5) (figura 2.8) é possível observar a presença dos sinais correspondentes ao ligando dpp entre 9,31 e 8,02 ppm e na zona do fosfano por volta dos 7,26 ppm, e dos sinais da dppe entre 7,41 e 7,19 ppm (CH aromáticos) e entre 2,58 e 2,45 ppm ( $\text{CH}_2$ ). Neste complexo, pela análise do espectro cosy (figura IX dos anexos II), foi possível fazer a atribuição dos prótons do ligando dpp. É possível observar que os sinais do complexo aparecem mais desblindados quando comparados com o ligando livre (tabela 2.2), devido à retrodoação existente entre o metal e ligando. A 8,23 ppm parece haver a sobreposição de dois sinais, o H1 e o H3, como os sinais estão sobrepostos não é possível fazer a sua distinção, se os sinais não estivessem sobrepostos o sinal mais desblindado seria o do próton H1 pela sua proximidade ao átomo de azoto mais electronegativo.



**Figura 2.8** - Espectro  $^1\text{H}$  RMN do complexo  $[(\text{dppe})\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{dppe})][\text{BF}_4]_2$  (5) em clorofórmio- $d$ .

**Tabela 2.2** – Dados de  $^1\text{H}$  RMN dos complexos  $[(\text{PPh}_3)_2\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2][\text{BF}_4]_2$  (3) e  $[(\text{dppe})\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{dppe})][\text{BF}_4]_2$  (5) e do ligando dpp livre (desvios químicos em ppm)

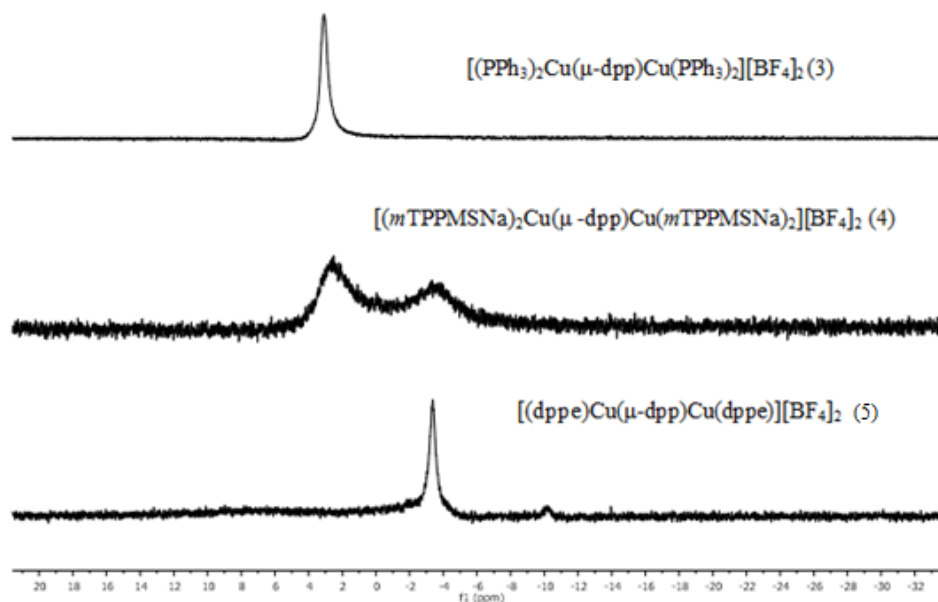
Composto	Número de próton				
	$\delta$ (desvio químico)				
dpp	H1	H2	H3	H4	H5
	7,88	6,71	7,26	7,26	8,18
$[(\text{PPh}_3)_2\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2][\text{BF}_4]_2$ (3)	8,61	7,43	8,16	7,63	8,99
$[(\text{dppe})\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{dppe})][\text{BF}_4]_2$ (5)	8,25	7,26	8,21	8,02	9,31

### 2.3.1.3-Espectroscopia de $^{31}\text{P}$ RMN

Na figura 2.9 estão representados os espectros de fósforo dos complexos  $[(\text{PPh}_3)_2\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2][\text{BF}_4]_2$  (3),  $[(m\text{TPPMSNa})_2\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2][\text{BF}_4]_2$  (4) e  $[(\text{dppe})\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{dppe})][\text{BF}_4]_2$  (5). Os complexos 3 e 5 apresentam um sinal a 3,09 e a -3,42 ppm respectivamente, enquanto o complexo 4 apresenta dois sinais, a 2,51 ppm e a -3,63 ppm, que podem

estar relacionados com a fluxionalidade do complexo, um estudo a baixa temperatura poderá provar se a presença de dois sinais é devida à fluxionalidade.

Quando o trifenilfosfano, a dppe e o trifenilfosfano sulfonado se encontram livres os sinais do fósforo aparecem a -5 ppm, -12 ppm e a -6,65 ppm, respectivamente. O fósforo coordenado que apresenta maior diferença em relação ao fósforo livre, é o trifenilfosfano sulfonado no complexo 4 (diferença de 14,51 ppm), o que indica que é o fósforo com carácter mais doador, o que poderá estar relacionado com a presença do grupo  $\text{SO}_3^-$ , a presença deste grupo faz com que ocorra uma maior doação de electrões para o metal. Enquanto que o trifenilfosfano e a dppe apresentam uma diferença de 8,09 e 3,23 ppm respectivamente, tendo o trifenilfosfano um carácter mais doador quando comparado com a dppe.

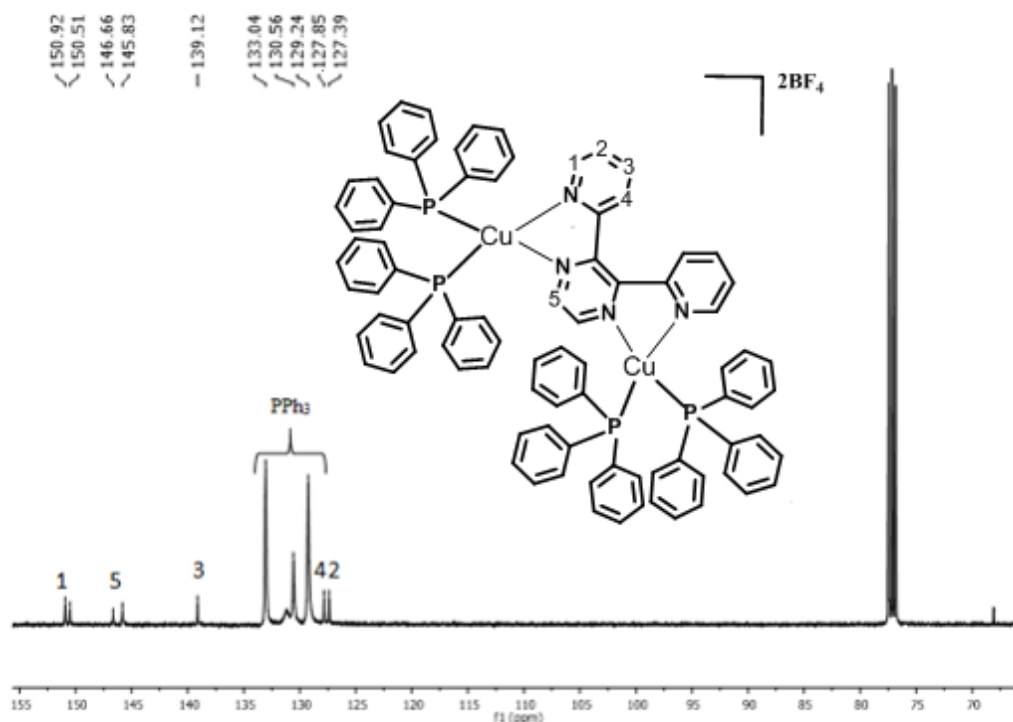


**Figura 2.9** – Espectros de  $^{31}\text{P}$  RMN dos complexos  $[(\text{PPh}_3)_2\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2][\text{BF}_4]_2$  (3) em clorofórmio-*d*,  $[(m\text{TPPMSNa})_2\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2][\text{BF}_4]_2$  (4) em dimetilsulfóxido-*d* e  $[(\text{dppe})\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{dppe})][\text{BF}_4]_2$  em clorofórmio-*d*.

### 2.3.1.4-Espectroscopia de $^{13}\text{C}$ RMN

No espectro  $^{13}\text{C}$  RMN do complexo  $[(\text{PPh}_3)_2\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2][\text{BF}_4]_2$  (3) (figura 2.4), é possível observar os carbonos correspondentes ao trifenilfosfano sulfonado e ao ligando dpp. Os sinais do ligando dpp desblindam em relação ao ligando livre, o que é explicado pela doação de electrões que ocorre entre o ligando e o metal (cobre), este comportamento corresponde ao observado no espectro de protão.

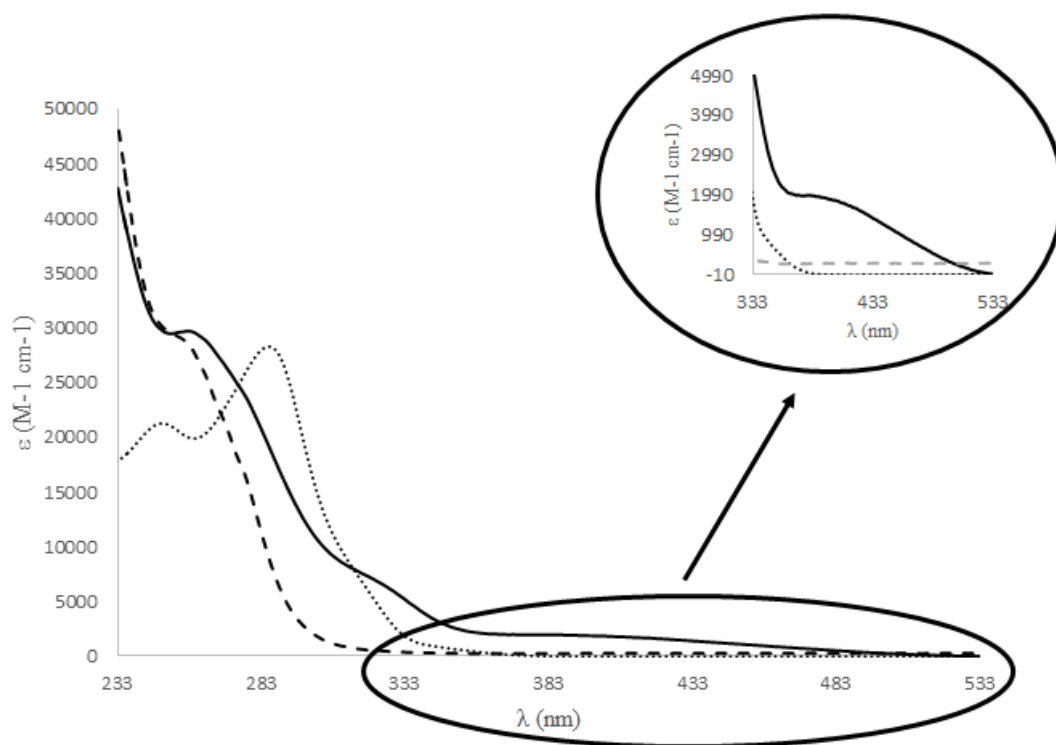
Não foi possível fazer a atribuição dos picos de carbono dos complexos  $[(m\text{TPPMSNa})_2\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2][\text{BF}_4]_2$  (4) e  $[(\text{dppe})\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{dppe})][\text{BF}_4]_2$  (5). Os espectros deverão ser realizados a baixas temperaturas, de modo a conseguir identificar os respectivos picos.



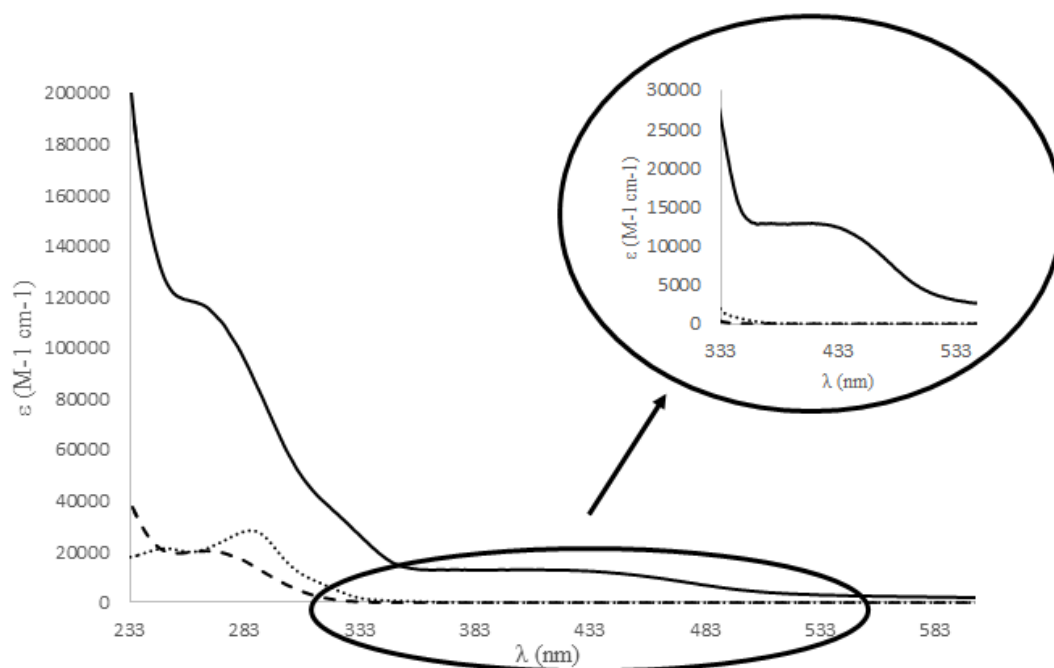
**Figura 2.10** - Espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN do complexo  $[(\text{PPh}_3)_2\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2][\text{BF}_4]_2$  (3) em clorofórmio-*d*.

### 2.3.1.5-Espectros electrónicos de Ultravioleta-visível

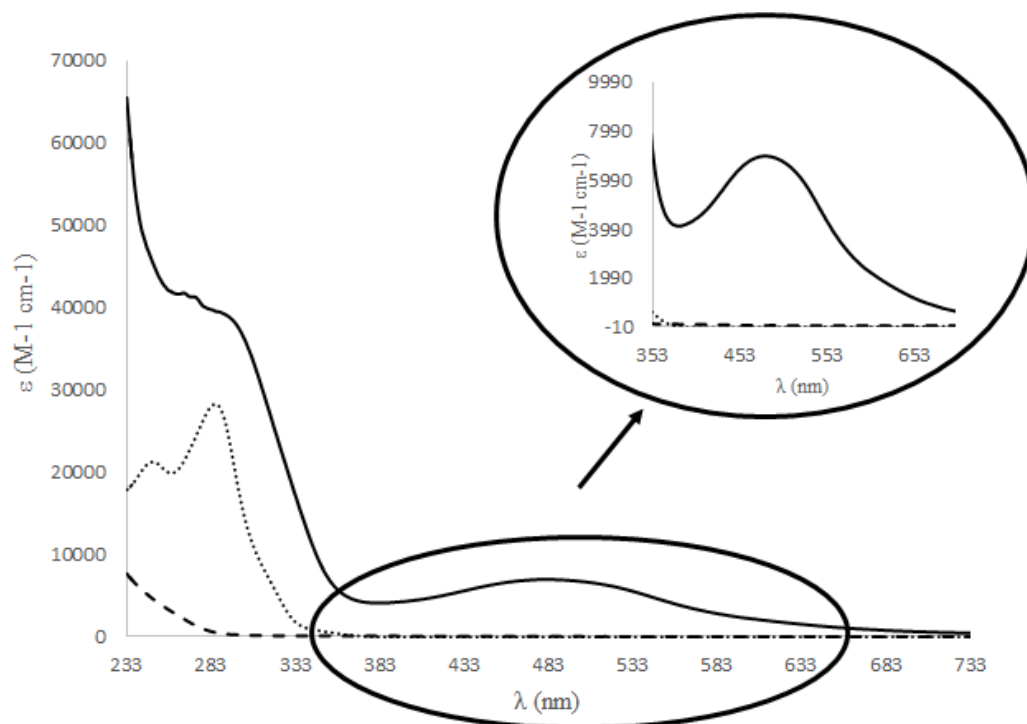
Os espectros de UV-vis dos complexos  $[(\text{PPh}_3)_2\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2][\text{BF}_4]_2$  (3),  $[(m\text{TPPMSNa})_2\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2][\text{BF}_4]_2$  (4) e  $[(\text{dppe})\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{dppe})][\text{BF}_4]_2$  (5) (figuras 2.11, 2.12 e 2.13, respectivamente) foram realizados em soluções de diclorometano com concentrações entre  $1 \times 10^{-3}$  a  $1 \times 10^{-5}$  mol/L. No geral, todos os espectros de absorção dos complexos apresentam uma banda entre 485-416 nm, a localização da banda e o valor elevado do coeficiente de absorvidade molar (tabelas II a V do anexo III) revela que se trata de uma transferência de carga do metal para o ligando (MLCT), também se observam ombros entre 315 e 257 nm que correspondem às transições  $\pi$ - $\pi^*$  do ligando e do seu precursor.



**Figura 2.11** - Espectro de UV-vis dos complexos  $[(PPh_3)_2Cu(\mu-dpp)Cu(PPh_3)_2][BF_4]_2$  (3) (—),  $[Cu(PPh_3)_2(CH_3CN)_2][BF_4]$  (---) e do ligando dpp livre (····), em diclorometano.



**Figura 2.12** – Espectro de UV-vis dos complexos  $[(mTPPMSNa)_2Cu(\mu-dpp)Cu(mTPPMSNa)_2][BF_4]_2$  (4) (—),  $[Cu(mTPPMSNa)_2(CH_3CN)_2][BF_4]$  (---) e do ligando dpp livre (····), em diclorometano.



**Figura 2.13** - Espectro de UV-vis dos complexos [(dppe)Cu(μ-dpp)Cu(dppe)][BF<sub>4</sub>]<sub>2</sub> (5) (—), [Cu(dppe)(CH<sub>3</sub>CN)<sub>2</sub>][BF<sub>4</sub>] (---) e do ligando dpp livre (····), em diclorometano.

### 2.3.1.6-Análises elementares

Na tabela 2.3 são apresentados os valores experimentais e teóricos das percentagens de carbono, hidrogénio, azoto e enxofre obtidos para os complexos 3-5.

No complexo [(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cu(μ-dpp)Cu(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>][BF<sub>4</sub>] (3) verificou-se a presença de 0,1 moléculas de diclorometano (solvente usado na recristalização do complexo).

Observa-se na mesma tabela, que os resultados experimentais do complexo [mTPPMSNa)<sub>2</sub>Cu(μ-dpp)Cu(mTPPMSNa)<sub>2</sub>][BF<sub>4</sub>]<sub>2</sub> (4) não coincidiram com os resultados teóricos. Pelo espectro de RMN não é possível observar impurezas, no entanto este complexo deverá ser estudado a baixa temperatura. Este estudo vai permitir tirar conclusões sobre a possível existência de ligando livre, que poderá ser a causa destes resultados.

Os resultados experimentais obtidos para o complexo [(dppe)Cu(μ-dpp)Cu(dppe)][BF<sub>4</sub>]<sub>2</sub>, (5) indicam que estão presentes 0.8 moléculas de diclorometano, solvente usado na recristalização deste complexo.

**Tabela 2.3** - Percentagem C, H, N e S determinada por análise elementar aos complexos [(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cu(μ-dpp)Cu(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>][BF<sub>4</sub>]<sub>2</sub> (3), [(*m*TPPMSNa)<sub>2</sub>Cu(μ-dpp)Cu(*m*TPPMSNa)<sub>2</sub>][BF<sub>4</sub>]<sub>2</sub> (4) e [(dppe)Cu(μ-dpp)Cu(dppe)][BF<sub>4</sub>]<sub>2</sub> (5).

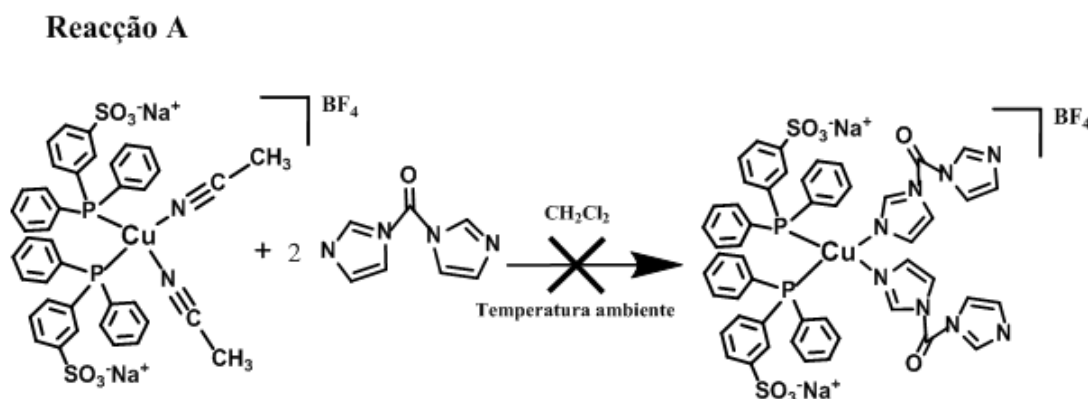
Complexo		C	H	N	S
Complexo 3 Cu <sub>2</sub> C <sub>86</sub> H <sub>70</sub> P <sub>4</sub> N <sub>4</sub> B <sub>2</sub> F <sub>8</sub> ·0.1CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	% Teórico	64,9	4,5	3,5	
	% Experimental	64,8	4,5	3,6	
Complexo 4 Cu <sub>2</sub> C <sub>86</sub> H <sub>66</sub> P <sub>4</sub> N <sub>4</sub> S <sub>4</sub> O <sub>12</sub> Na <sub>4</sub> B <sub>2</sub> F <sub>8</sub>	% Teórico	51,9	3,3	2,8	6,4
	% Experimental	53,8	4,1	2,9	6
Complexo 5 Cu <sub>2</sub> C <sub>66</sub> H <sub>58</sub> P <sub>4</sub> N <sub>4</sub> B <sub>2</sub> F <sub>8</sub> ·0.8CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	% Teórico	57,3	4,3	4,1	
	% Experimental	56,9	4,4	4,8	

## 2.4 Síntese inconclusiva

Com vista a sintetizar novos complexos binucleares, outras sínteses foram realizadas, no entanto não se conseguiu identificar o produto formado.

O objectivo desta síntese era a formação de um complexo que funcionasse como precursor para a síntese de complexos com três centros metálicos (esquema 2.3).

No presente tópico será apresentada e discutida a síntese realizada e as conclusões obtidas.



**Esquema 2.3-** Esquema da reacção do complexo [Cu(*m*TPPMSNa)<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>CN)<sub>2</sub>][BF<sub>4</sub>] com o ligando 1,1'-carbonildiimidazole

### 2.4.1-Reacção A

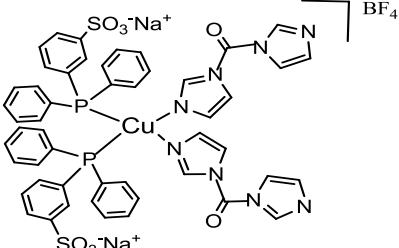
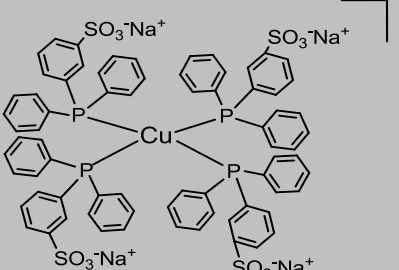
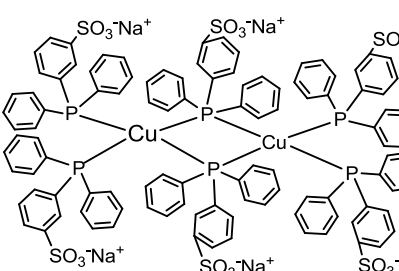
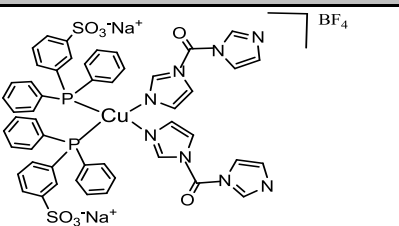
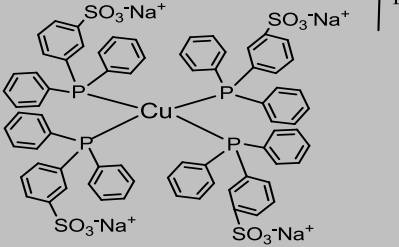
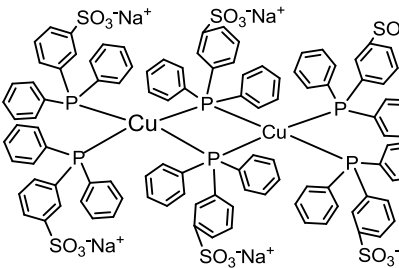
Fez-se reagir o ligando 1,1'-carbonildiimidazole, com o complexo [Cu(*m*TPPMSNa)<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>CN)<sub>2</sub>][BF<sub>4</sub>]. A reacção fez-se por duas vias, primeiramente adicionou-se o ligando 1,1'-carbonildiimidazole a uma solução do complexo [Cu(*m*TPPMSNa)<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>CN)<sub>2</sub>][BF<sub>4</sub>] em diclorometano (síntese A1), numa segunda via dissolveu-se o ligando e o complexo em diclorometano mesmo solvente (em diferentes schlenks), e adicionou-se lentamente a solução que continha o ligando à solução que continha o complexo (síntese A2).

Em ambos os casos, pelo espectro de <sup>1</sup>H RMN, não se observaram os picos correspondentes ao ligando 1,1'-carbonildiimidazole nem do acetonitrilo, só se observaram os picos do trifenilfosfano sulfonado. Como não se observaram os picos do ligando 1,1'-carbonildiimidazole nem do acetonitrilo, ocorreu uma reacção em que metal só se encontra coordenado ao trifenilfosfano sulfonado.



Com o objectivo de perceber que tipo de estrutura se tinha formado estudou-se a condutividade do composto obtido para determinar o número de contra-íões presentes. Para este estudo, como não havia certezas do complexo formado, consideram-se três estruturas que possivelmente se poderão ter formado. Na tabela 2.4 encontram-se os valores obtidos para cada uma das potenciais estruturas formadas.

**Tabela 2.4** - Valores de condutividade (mS/cm) dos possíveis complexos formados.

Complexo	Condutividade (mS/cm)
<b>Síntese A1</b>	
	0,67
	0,74
	0,89
<b>Síntese A2</b>	
	0,56
	0,61
	0,72

Os estudos de condutividade foram efectuados em metanol, este solvente tem valores tabelados que permitem relacionar a condutividade eléctrica com o número de contra-íões existentes na estrutura. Considerando os resultados obtidos e a tabela em referência bibliográfica [41], torna-se pertinente referir que a estrutura sintetizada pode ser um dímero, dado que a razão de electrólito suporte/contra-ião é de 2:1.

Apesar de não existirem na literatura estruturas semelhantes, onde o fósforo partilhe cinco ligações, pelos resultados obtidos, a estrutura em que o trifenilfosfano sulfonado funciona de ponte para a formação do complexo bimetálico é a hipótese mais válida.

---

# Capítulo 3

---

*Síntese e caracterização dos complexos  
binucleares Cu(I)-Ru(II) e Ru(II)-Ru(II)*

### 3- Síntese e caracterização dos complexos binucleares de Cu(I)-Ru(II) e Ru(II)-Ru(II)

Na realização deste trabalho procurou-se sintetizar e caracterizar novos complexos binucleares de Cu(I) e Ru(II). Os complexos de ruténio, assim como os complexos de cobre, apresentam um grande potencial como agente antitumorais [21-25, 27, 28]. Tal como no capítulo anterior, a ideia é desenvolver complexos binucleares, mas neste caso com metais diferentes. A presença de dois metais diferentes na mesma estrutura poderá melhorar a citotoxicidade, mas também poderá possibilitar que o composto actue em diferentes alvos biológicos em simultâneo. Para a síntese dos novos complexos, utilizou-se como precursor o composto  $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}]$ , a síntese deste precursor foi realizada de acordo com o procedimento descrito por Bruce *et. al* [42] e os precursores de cobre,  $[\text{Cu}(\text{P})(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  (onde  $\text{P} = 2\text{PPh}_3$ ,  $2m\text{TPPMSNa}$  ou  $\text{dppe}$ ) já descritos no capítulo anterior.

Estes complexos são relativamente fáceis de sintetizar e contêm grupos lábeis, como o cloro e o acetonitrilo, que facilitam a reacção com outros ligandos.

#### 3.1-Objectivo

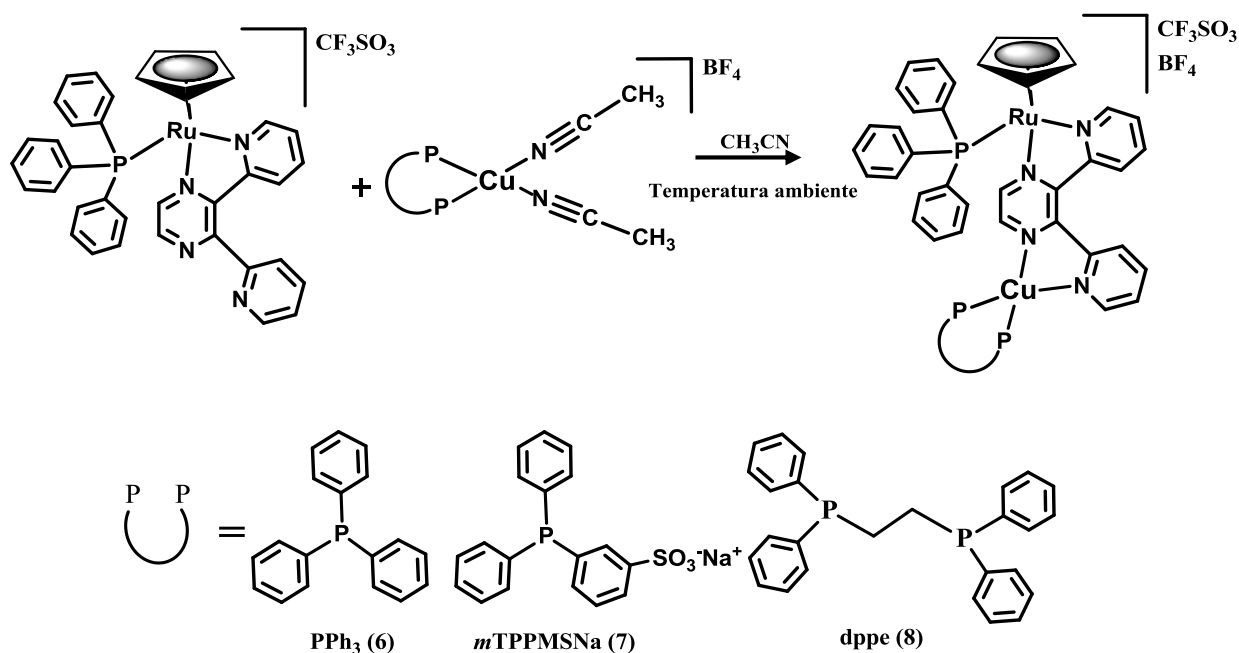
Esta parte do trabalho teve como objectivo a síntese e caracterização de complexos binucleares com iões metálicos de cobre(I) e ruténio(II), para potencial aplicação como agentes antitumorais.

Fizeram-se diversas reacções onde se utilizaram três ligandos, o 2,3-Bis(2-piridil)pirazina ( $\text{dpp}$ ), o 1-1'-carbonildiimidazole ( $\text{CDI}$ ) e o 2-2'-bipiridil-4-4'-ácido dicarboxílico ( $\text{dcbpy}$ ).

Neste capítulo serão discutidas as sínteses e a caracterização dos complexos sintetizados.

#### 3.2- Sínteses dos complexos binucleares de Cobre(I) – Ruténio(II)

A síntese destes complexos foi realizada em diclorometano ou acetonitrilo, à temperatura ambiente, sob agitação, por abstracção dos grupos acetonitrilo dos complexos de cobre(I)  $[\text{Cu}(\text{P})(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  (onde  $\text{P} = 2\text{PPh}_3$ ,  $2m\text{TPPMSNa}$  ou  $\text{dppe}$ ), permitindo a coordenação do complexo  $[\text{RuCP}(\text{PPh}_3)(\text{dpp})][\text{CF}_3\text{SO}_3]$  através dos átomos de azoto do ligando 2,3-bis(2-piridil)pirazina ( $\text{dpp}$ ).



**Esquema 3.1** - Esquema reacional da síntese dos complexos  $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (6),  $[\text{Cu}(\text{mTPPMSNa})_2(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (7) e  $[\text{Cu}(\text{dppe})(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (8)

### 3.2.1-Caracterização dos compostos

Esta família de complexos foi caracterizada pelas técnicas espectroscópicas de FT-IR,  $^1\text{H}$  RMN,  $^{31}\text{P}$  RMN,  $^{13}\text{C}$  RMN, cosy, HMBC, HSQC e UV-vis e análises elementares.

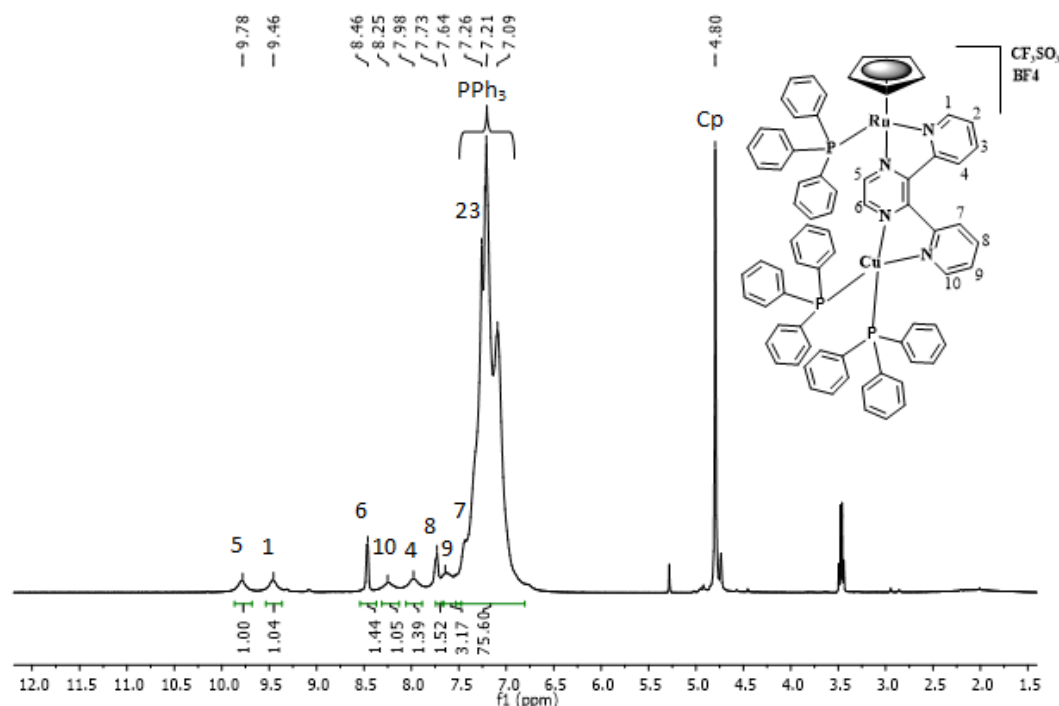
#### 3.2.1.1-Espectroscopia de Infravermelho

Através dos espectros de infravermelho dos complexos  $[\text{Cu}(\text{mTPPMSNa})_2(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (7) e  $[\text{Cu}(\text{dppe})(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (8) (figuras VI e VII do anexo I) foi possível observar as ligações C-H ( $\nu_{\text{C-H}}$ ) correspondentes ao anel ciclopentadienilo e ao ligando dpp por volta dos  $3000\text{ cm}^{-1}$ , as vibrações relativas às duplas ligações carbono-carbono ( $\nu_{\text{C=C}}$ ) do grupo fenilo dos fosfanos e do ligando dpp entre  $1500$  e  $1400\text{ cm}^{-1}$ , as bandas correspondentes à ligação carbono-nitrogénio do ligando dpp entre  $1630$  e  $1595\text{ cm}^{-1}$  ( $\delta_{\text{N-C}}$ ), também se observou a ligação carbono-hidrogénio ( $\delta_{\text{C-H}}$ ) entre  $800$  a  $600\text{ cm}^{-1}$ , e as bandas correspondentes aos contra-íões ( $\text{BF}_4$ ) a  $1000\text{ cm}^{-1}$  e a  $694\text{ cm}^{-1}$  e ao  $\text{SO}_3^-$  a  $1250\text{ cm}^{-1}$ . Para o complexo 8 também foi possível verificar a presença da vibração carbono-hidrogénio ( $\delta_{\text{C-H}}$ ) relativo ao fosfano dppe a aproximadamente  $2900\text{ cm}^{-1}$ .

#### 3.2.1.2-Espectroscopia de $^1\text{H}$ RMN

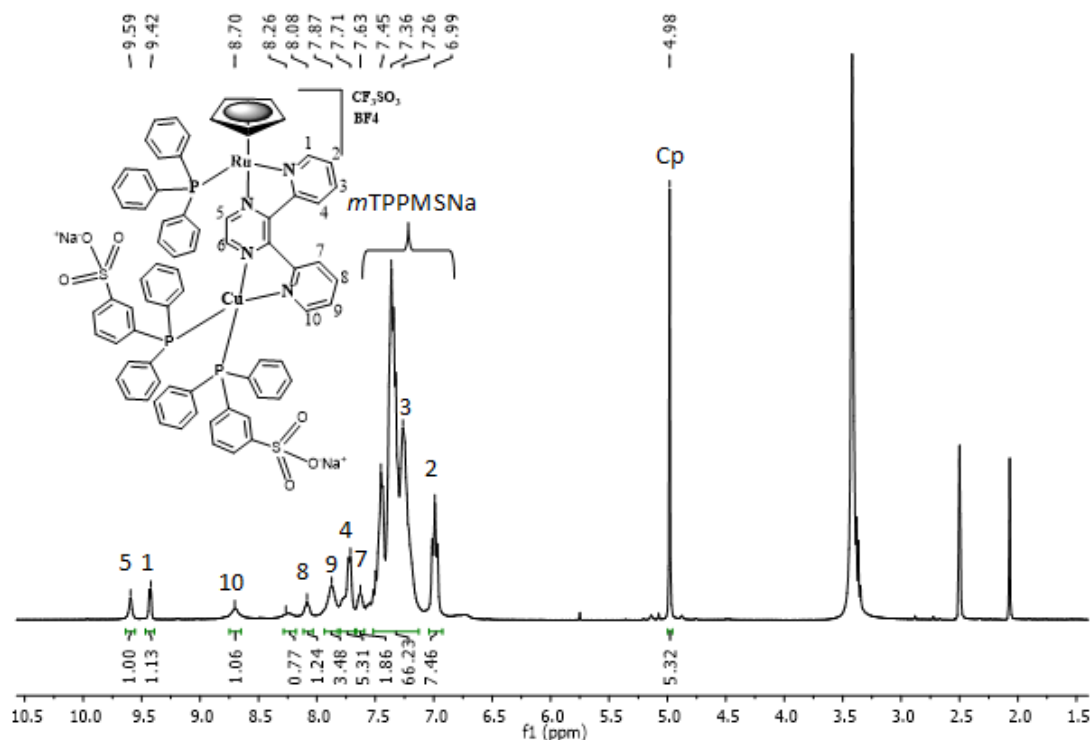
Pelo espectro de próton do complexo  $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (6) (figura 3.1) é possível observar os sinais correspondentes ao ligando dpp entre  $9,78$  a  $7,26\text{ ppm}$  e ao trifenilfosfano entre  $7,26$  a  $7,09\text{ ppm}$ , também é possível observar o sinal correspondente ao

ciclopentadienilo a 4,80 ppm. A coordenação do complexo de cobre faz com que ocorra uma desblindagem nos prótons H2, H4 e H6 e uma blindagem dos prótons H3, H7, H8 e H10, como é possível observar pelos desvios químicos apresentados na tabela 3.1. Estas blindagens e desblindagens ocorrem porque a densidade electrónica do complexo precursor  $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)(\text{dpp})][\text{CF}_3\text{SO}_3]$  é alterada com a entrada do complexo de cobre o que faz com que alguns prótons fiquem mais ricos electronicamente (blindam) e outros mais fracos electronicamente (desblindam). Ambos os centros metálicos estão coordenados a um trifenilfosfano, todos os sinais deste fosfano aparecem na zona dos aromáticos, no mesmo intervalo no espectro de próton, impossibilitando com que se diferencie o trifenilfosfano que está coordenado ao ruténio e ao cobre. O sinal do ciclopentadienilo não sofre alterações significativas, blindando 0.05 ppm, relativamente ao complexo  $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)(\text{dpp})][\text{CF}_3\text{SO}_3]$ .



**Figura 3.1** - Espectro de  $^1\text{H}$  RMN do complexo  $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (6), em clorofórmio-*d*.

Através da análise do espectro de próton do complexo  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (7) (figura 3.2) observa-se a presença dos sinais do ligando dpp entre 9,59 e 6,99 ppm, também é possível observar a presença dos sinais do trifenilfosfano sulfonado e do trifenilfosfano entre 7,45 a 6,99 ppm, e o sinal de ciclopentadienilo que se encontra a 4,98 ppm. Com a coordenação do complexo de cobre observou-se uma desblindagem dos prótons H2, H4 e H9 e uma blindagem dos prótons H3, H7, H8 e H10 em relação ao precursor  $[\text{RuCp}(\text{dpp})(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3]$  (tabela 3.1). Os sinais de ambos os fosfanos, o trifenilfosfano coordenado ao ruténio e o trifenilfosfano sulfonado aparecem no mesmo intervalo no espectro de próton, na zona dos aromáticos, impossibilitando com que se diferencie quais são os sinais de cada um dos fosfanos. O sinal do ciclopentadienilo não sofre alterações significativas, desblindando 0.03 ppm, relativamente ao complexo  $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)(\text{dpp})][\text{CF}_3\text{SO}_3]$ .



**Figura 3.2** - Espectro de  $^1\text{H}$  RMN do complexo  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (7), em dimetilsulfóxido- $d$ .

**Tabela 3.1** - Dados de  $^1\text{H}$  RMN dos complexos  $[(\text{PPh}_3)\text{CpRu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2][\text{CF}_3\text{SO}_3]$  (6) e  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (7) e do precursor  $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)(\text{dpp})][\text{CF}_3\text{SO}_3]$  (desvios químicos em ppm).

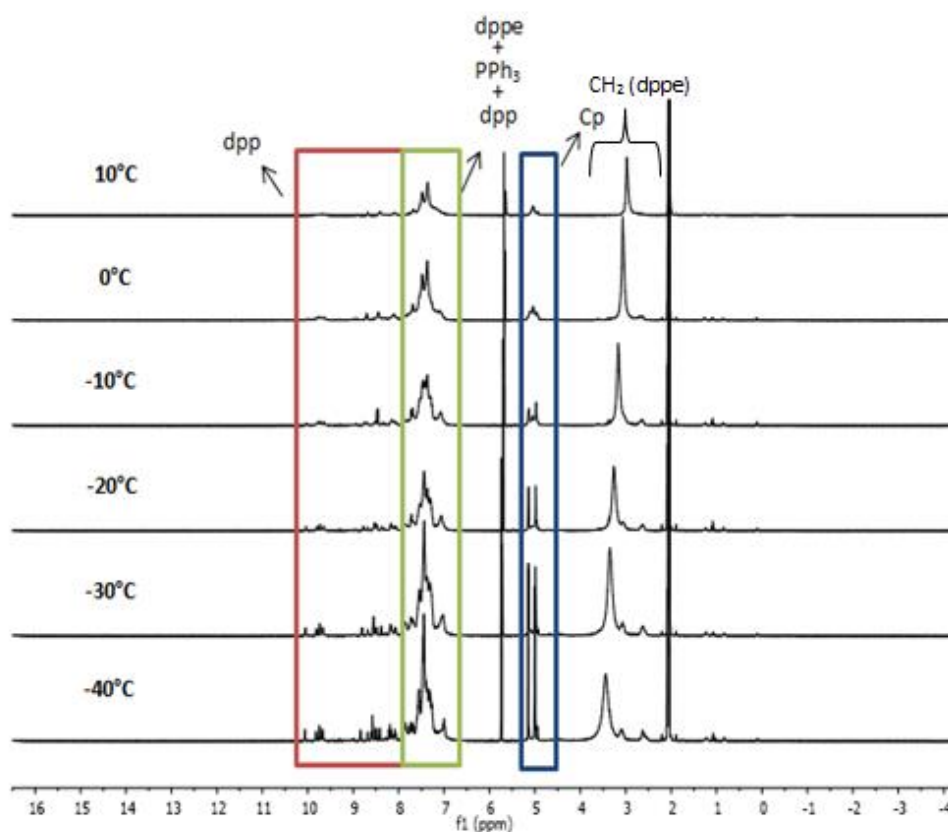
Composto	Número de próton									
	$\delta$ (desvio químico)									
	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	H10
$[\text{RuCp}(\text{dpp})(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3]$ (clorofórmio- $d$ )	9,53	7,22	7,51	6,70	9,72	8,36	7,83	8,17	7,67	8,67
$[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$ (6) (clorofórmio- $d$ )	9,46	7,43	7,26	7,98	9,78	8,46	7,43	7,73	7,64	8,25
$[\text{RuCp}(\text{dpp})(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3]$ (dimetilsulfóxido- $d$ )	9,41	6,41	7,68	7,20	9,64	8,64	8,17	8,41	7,76	8,80
$[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$ (7) (dimetilsulfóxido- $d$ )	9,42	6,99	7,26	7,71	9,59	*	7,63	8,08	7,87	8,70

\*O próton H6 não foi encontrado no complexo  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$ .



No espectro de próton do complexo  $[\text{Cu}(\text{dppe})(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (8), os sinais não se encontravam bem definidos impossibilitando a identificação de todos os sinais do complexo.

Realizou-se um estudo a baixas temperaturas, onde se verificou o aparecimento de um número de sinais superior ao esperado. No espectro à temperatura ambiente já eram visíveis dois sinais do ciclopentadienilo, com diferentes intensidades. Inicialmente com a observação de um número de sinais superiores ao esperado e com o aparecimento dos dois sinais correspondentes ao anel ciclopentadienilo pensou-se que haveria uma mistura de compostos. Na figura 3.3 estão representados os espectros de próton a várias temperaturas, como se pode verificar com a diminuição da temperatura os picos ficam cada vez mais definidos. Nos espectros de próton distinguem-se os sinais do ligando dpp (10,06-7,69 ppm), os sinais dos fosfanos (7,60-7,24 ppm), os picos correspondentes ao ciclopentadienilo (5,15-5,0 ppm) e ainda os sinais correspondentes aos grupos  $\text{CH}_2$  do fosfano dppe (3,11-2,57 ppm). À medida que se baixa a temperatura para além dos picos do ciclopentadienilo ficarem com a mesma intensidade, observa-se um número de picos muito elevado entre 10 a 7 ppm, zona em que se observam os sinais do ligando dpp e dos dois fosfanos, o  $\text{PPh}_3$  e a dppe. Por se pensar na existência de isómeros, foram efectuados mais estudos neste complexo, nomeadamente estudo da teoria do funcional da densidade (DFT).



**Figura 3.3** - Sobreposição dos espectros de  $^1\text{H}$  RMN a diferentes temperaturas (20°C, 0°C, -20°C, -30°C, -40°C) do complexo  $[\text{Cu}(\text{dppe})(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (8), em clorofórmio-*d*.

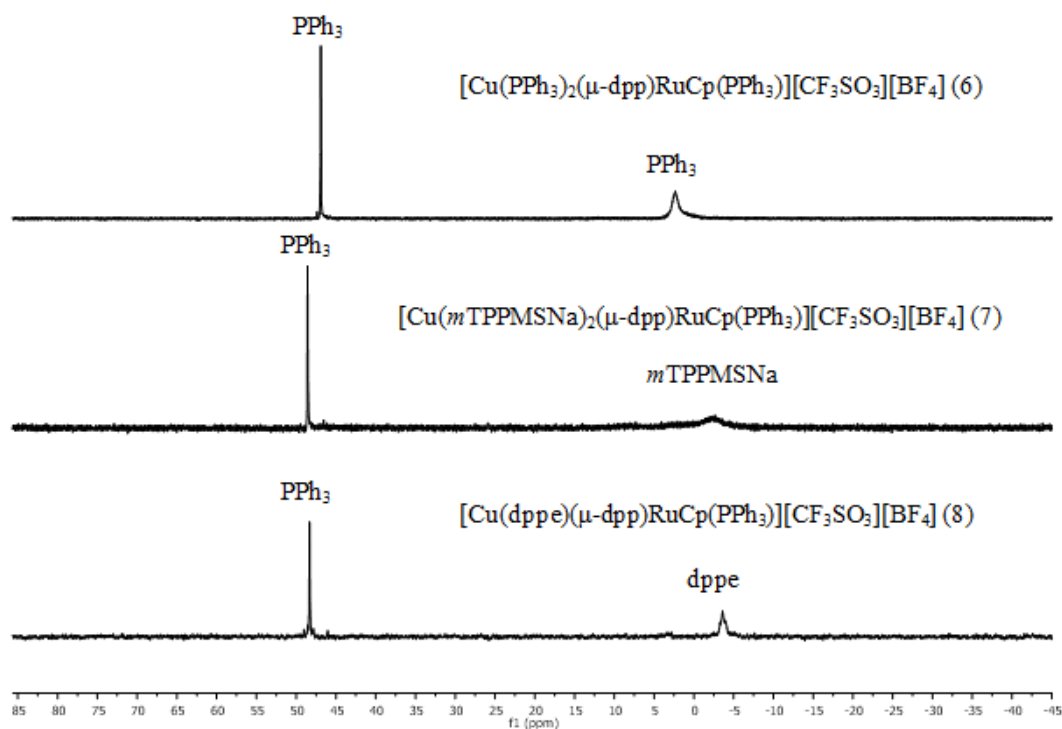
### 3.2.1.3-Espectroscopia de $^{31}\text{P}$ RMN

Os complexos  $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (6),  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (7) e  $[\text{Cu}(\text{dppe})(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (8), apresentam dois sinais de fósforo diferentes, um correspondente ao trifenilfosfano coordenado ao rutênio e outro ao fosfano coordenado ao cobre.

No complexo 6 observam-se dois sinais de fósforo a 46,90 ppm correspondente ao trifenilfosfano coordenado ao rutênio e a 2,33 ppm correspondente ao trifenilfosfano coordenado ao cobre, no complexo 7 o sinal a 48,57 ppm corresponde ao trifenilfosfano coordenado ao rutênio e o sinal a -2,57 ppm corresponde ao trifenilfosfano coordenado ao cobre, o complexo 8 também apresenta dois sinais, um a 48,32 ppm correspondente ao fosfano coordenado ao rutênio e a -3,61 ppm correspondente ao fosfano coordenado ao cobre (figura 3.4). No espectro de  $^{31}\text{P}$  do precursor de rutênio,  $[\text{RuCp}(\text{dpp})(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3]$ , em clorofórmio-*d* observa-se um sinal a 48,77 ppm e em dimetilsulfóxido-*d* o mesmo sinal aparece a 49,29 ppm. Em todos os complexos observa-se uma ligeira blindagem do fosfano quando comparado com o precursor, mas tendo em conta a escala do espectro as diferenças verificadas não são significativas.

Os precursores de cobre  $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  e  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  apresentam sinais dos fosfanos a -0,33 e a -3,82 ppm, respectivamente. Quando comparado com o precursor ambos os sinais dos fosfanos dos complexos  $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (6) e  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (7), sofrem uma ligeira desblindagem, mas também neste caso, as diferenças observadas não são significativas.

Não foi possível fazer a comparação dos espectros de  $^{31}\text{P}$  do complexo  $[\text{Cu}(\text{dppe})(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (8) com o seu precursor  $[\text{Cu}(\text{dppe})(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  uma vez que por questões de solubilidade, foram realizados em diferentes solventes deuterados.



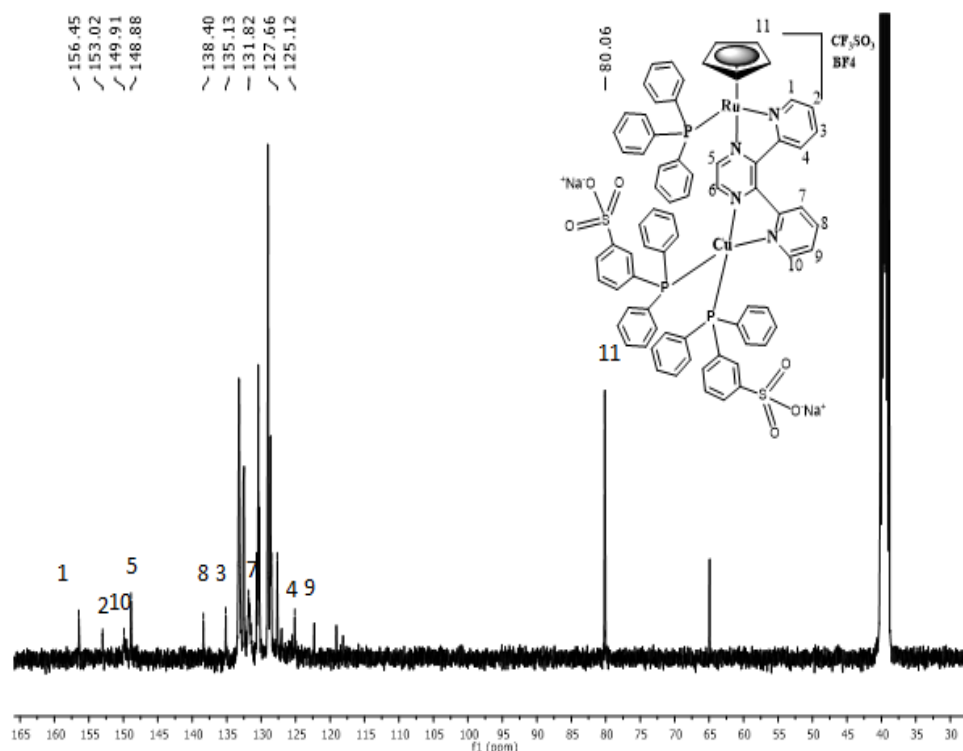
**Figura 3.4** - Espectros de  $^{31}\text{P}$  RMN dos complexos  $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (6),  $[(\text{PPh}_3)\text{CpRu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (7) e  $[\text{Cu}(\text{dppe})(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (8), em clorofórmio-*d*.

### 3.2.1.4-Espectroscopia de $^{13}\text{C}$ RMN

No espectro  $^{13}\text{C}$  RMN do complexo  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (7), (figura 3.5), é possível observar todos os carbonos correspondentes aos diferentes grupos do complexo, no entanto só foi possível atribuir alguns carbonos do ligando dpp e do ciclopentadienilo.

Não se observaram desblindagens nem blindagens, significativas em relação ao precursor de rutênio ( $[\text{RuCp}(\text{dpp})(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3]$ ). Entre 134 ppm e 129 ppm, para além de estarem alguns dos prótons correspondentes ao ligando dpp, encontram-se os sinais correspondentes aos fosfanos  $\text{PPh}_3$  e  $m\text{TPPMSNa}$ . Estes sinais que correspondem aos anéis aromáticos aparecerem no mesmo intervalo no espectro, o que impossibilita com que seja feita a atribuição de cada sinal de carbono ao respectivo fosfano.

Não foi possível fazer a atribuição dos picos de carbono dos complexos,  $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (6) e  $[\text{Cu}(\text{dppe})(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (8) à temperatura ambiente, deverá ser realizado um estudo a baixas temperaturas, de modo, a possibilitar a identificação dos picos de carbono.

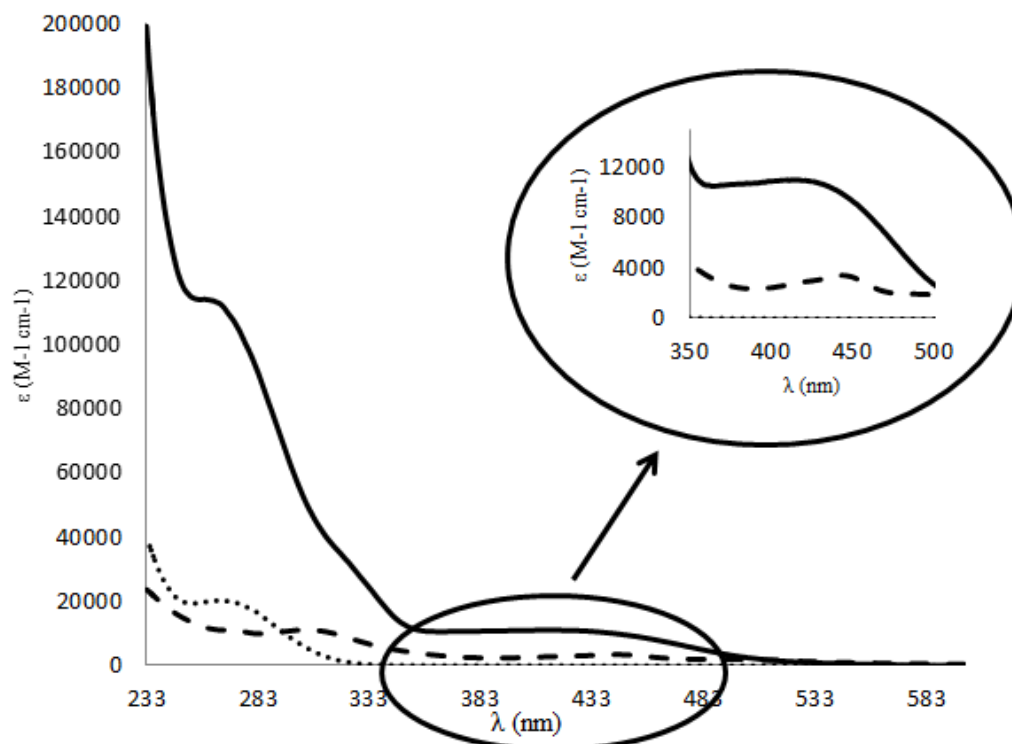


**Figura 3.5** - Espectro de  $^{13}\text{C}$  do complexo  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (7), em dimetilsulfóxido-*d*.

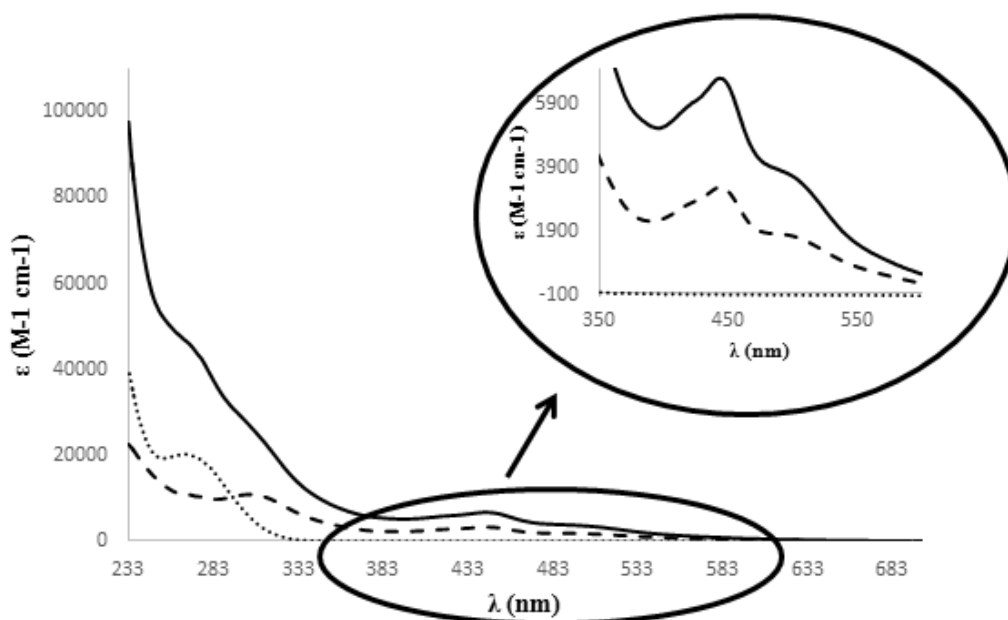
### 3.2.1.5-Espectros electrónicos de Ultravioleta-visível

Os espectros de UV-vis dos complexos  $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (6)  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (7) e  $[\text{Cu}(\text{dppe})(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (8) foram realizados com soluções de diclorometano de concentrações entre  $1 \times 10^{-3}$  a  $1 \times 10^{-5}$  mol/L. É possível observar nos espectros de absorção dos complexo 6, 7 e 8 (figuras 3.6, 3.7 e 3.8, respectivamente) uma banda entre 474-421 nm, pela sua localização e pelo valor do coeficiente de

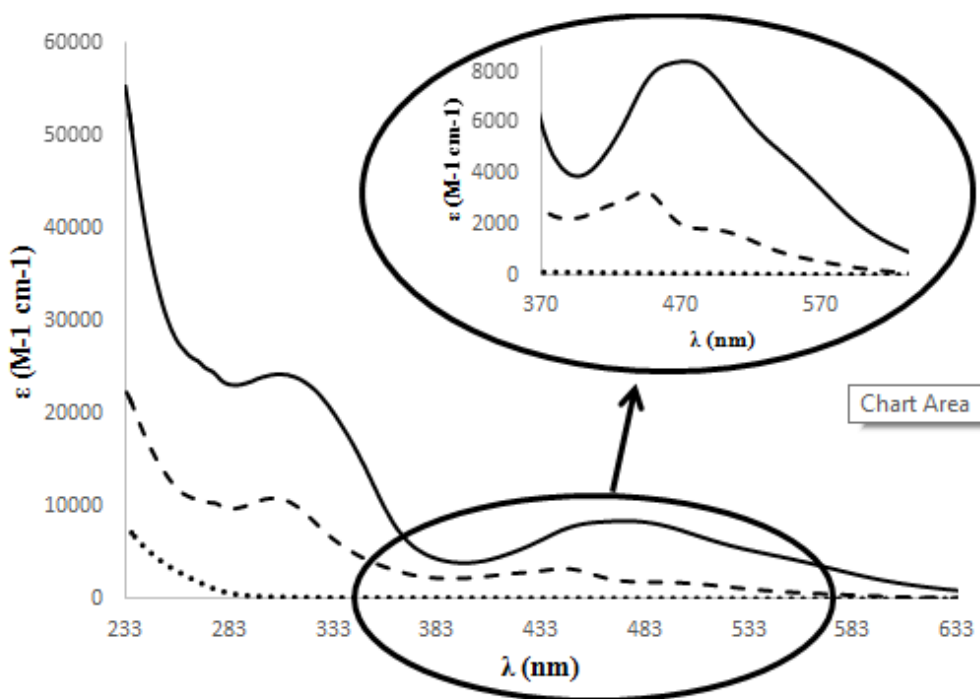
absortividade molar (tabelas V a VII de anexo III) trata-se de uma banda de transferência de carga do metal para o ligando MLCT, observa-se ainda a presença de bandas e ombros entre 328-259 nm relativas às transições  $\pi$ - $\pi^*$  do ligando dpp e aos complexos de partida.



**Figura 3.6** – Espectro de UV-vis dos complexos  $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (6) (—),  $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)_2\text{dpp}][\text{CF}_3\text{SO}_3]$  (---) e o complexo  $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  (....), em diclorometano.



**Figura 3.7** - Espectro de UV-vis dos complexos  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (7) (—),  $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)_2\text{dpp}][\text{CF}_3\text{SO}_3]$  (---), e  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  (....), em diclorometano.



**Figura 3.8** - Espectro de UV-vis dos complexos  $[\text{Cu}(\text{dppe})(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (8) (—),  $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)\text{dpp}][\text{CF}_3\text{SO}_3]$  (---), e o  $[\text{Cu}(\text{dppe})(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  (····), em diclorometano.

### 3.2.1.6-Análises elementares

Na tabela 3.2 apresentam-se os valores experimentais e teóricos das percentagens de carbono, hidrogénio, azoto e enxofre obtidos para os complexos 6, 7 e 8.

Os valores obtidos para o complexo  $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (6) estão de acordo com os valores teóricos.

Os resultados obtidos do complexo  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (7), não coincidiram com os valores teóricos, no entanto pelos espectros de RMN não foram observadas impurezas.

No complexo  $[\text{Cu}(\text{dppe})(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (8), os valores obtidos indicam que estão presentes 0.8 moléculas de diclorometano, solvente na recristalização deste complexo.

**Tabela 3.2** - Percentagem de C, H, N e S determinada por análise elemental aos complexos  $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (6),  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (7) e  $[\text{Cu}(\text{dppe})(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (8).

Complexo		C	H	N	S
Complexo 6 $\text{RuCuC}_{74}\text{H}_{60}\text{N}_4\text{P}_3\text{BF}_7\text{SO}_3$	% Teórico	59,8	4,1	3,8	2,2
	% Experimental	59,9	4,2	3,3	<2
Complexo 7 $\text{RuCuC}_{74}\text{H}_{58}\text{N}_4\text{P}_3\text{BF}_7\text{S}_3\text{O}_9\text{Na}_2$	% Teórico	52,6	3,5	3,3	5,7
	% Experimental	54,5	3,7	2,9	5,7
Complexo 8 $\text{RuCuC}_{74}\text{H}_{60}\text{N}_4\text{P}_3\text{S}_3\text{O}_9\text{Na}_2\text{BF}_7 \cdot 0.8\text{CH}_2\text{Cl}_2$	% Teórico	56,5	4,0	4,1	2,4
	% Experimental	54,6	3,9	4,4	2

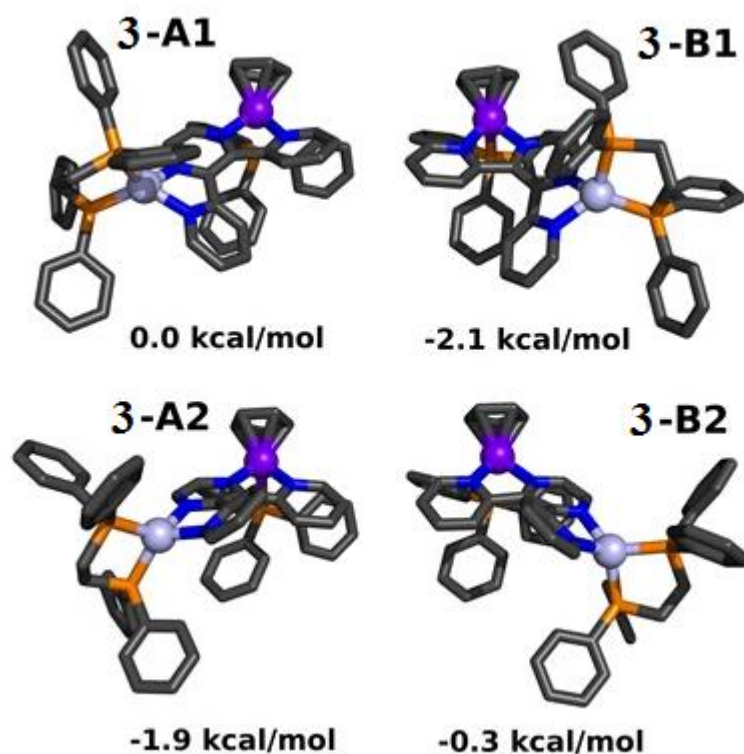
### 3.2.1.7-Estudos de teoria do funcional da densidade (DFT)

Este estudo foi realizado pelo Doutor Paulo Costa, na Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa.

Com o intuito de confirmar a possível existência dos isómeros, observada pela análise do espectro de próton do complexo  $[\text{Cu}(\text{dppe})(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (8), realizou-se um estudo teórico de teoria do funcional da densidade (DFT). Devido à natureza do centro metálico de rutênio pode existir uma mistura diastereoisomérica no complexo  $[\text{Ru}(\text{Cp})(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3]$  (3-A e 3-B), por outro lado o ligando dpp tem a possibilidade de existir em duas conformações, acima ou abaixo do plano, dando no total quatro possíveis estruturas (3-A1, 3-A2, 3-B1 e 3-B2) presentes na figura 3.9. Todas estas possíveis estruturas foram obtidas juntamente com a energia livre de Gibbs (kcal/mol).

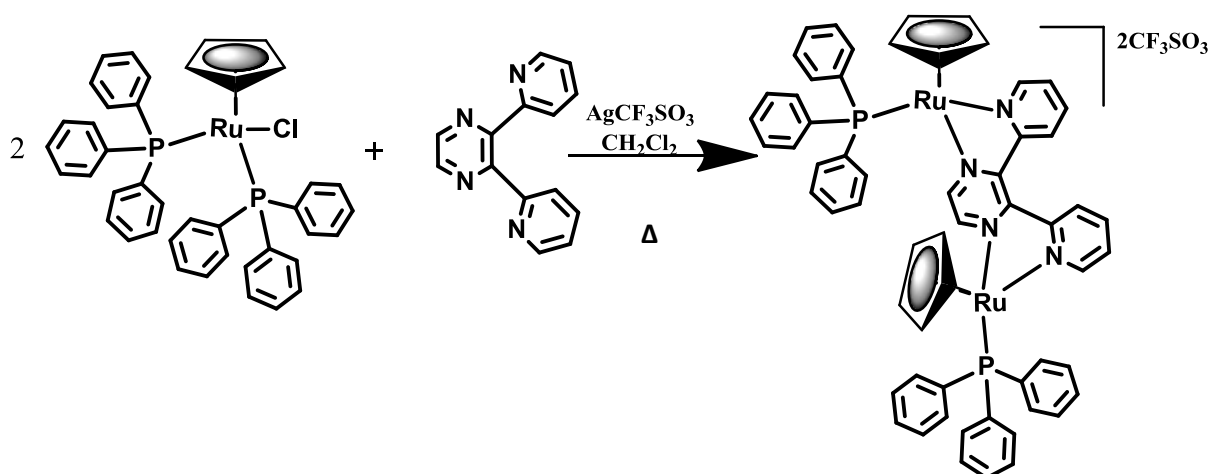
Os cálculos DFT também permitem visualizar quais as estruturas que são energeticamente acessíveis, os mesmos confirmaram que os dois diastereoisômeros 3-A e 3-B possuem duas conformações energeticamente acessíveis, que são muito próximas em termos de energia (1,8-1,9 Kcal/mol). Como a barreira energética não é esperada que seja grande, os dois equilíbrios  $3\text{-A1} \leftrightarrow 3\text{-A2}$  e  $3\text{-B1} \leftrightarrow 3\text{-B2}$  podem ocorrer em solução a temperatura ambiente.

Estes cálculos confirmaram os resultados observados no espectro de próton deste complexo, onde se observou o dobro dos sinais correspondentes ao ligando dpp, ao ciclopentadienilo e ao fosfano dppe.



**Figura 3.9** – Estruturas optimizadas por DFT (PBE0) dos isómeros 3-A1, 3-A2, 3-B1 e 3-B2. A energia livre relativa (kcal/mol) também está presente.

### 3.3- Sínteses dos complexos binucleares de Ruténio(II) – Ruténio(II)



**Esquema 3.2** - Esquema reacional da síntese do complexo  $[(PPh_3)CpRu(\mu\text{-dpp})RuCp(PPh_3)][CF_3SO_3]_2$  (9).

#### 3.3.1- Caracterização dos compostos

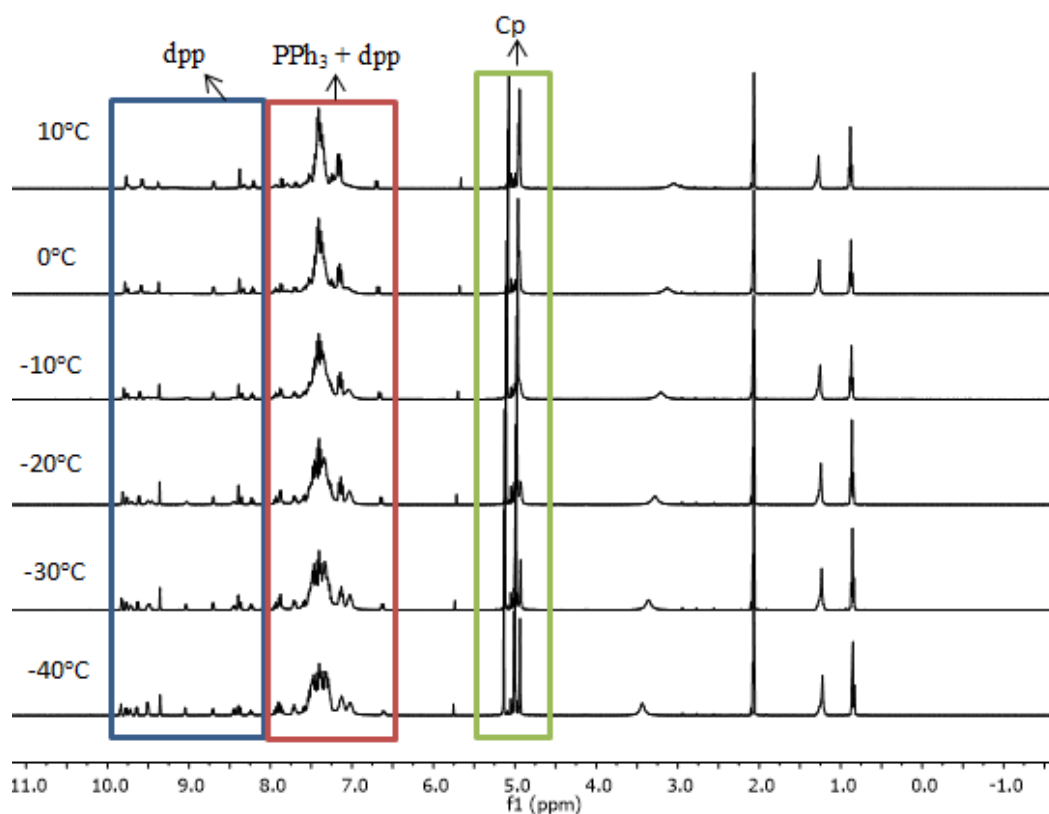
Este complexo foi caracterizado por  $^1H$  RMN,  $^{31}P$  RMN e por análises elementares.

##### 3.3.1.1- Espectroscopias de $^1H$ RMN e $^{31}P$ RMN

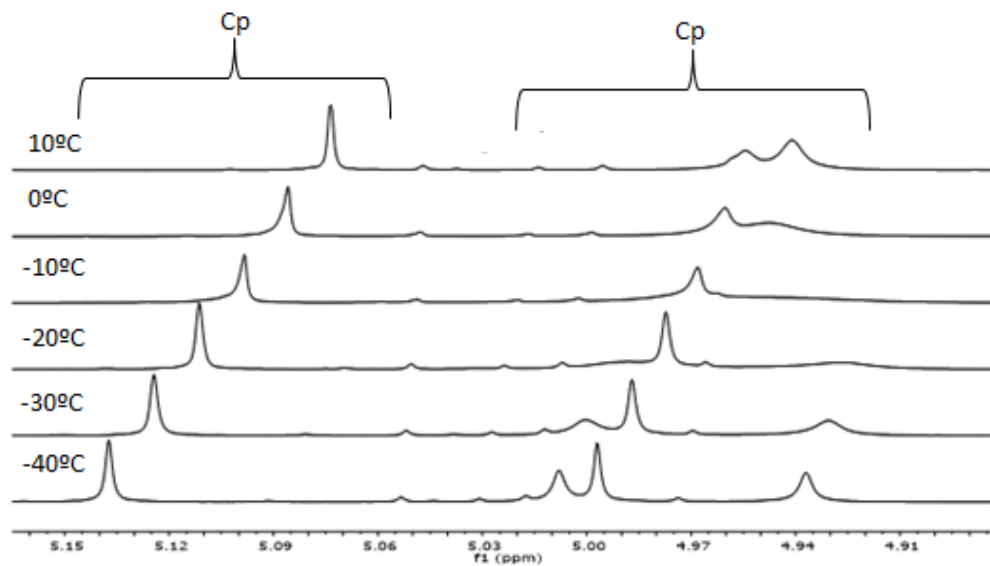
À temperatura ambiente observou-se o aparecimento de dois sinais relativos ao ciclopentadienilo, decidiu-se fazer um estudo de próton a baixa temperatura com o objectivo de verificar se estes dois sinais correspondiam a um isómero (como observado no complexo 8) ou se tratava de uma mistura de compostos. Na figura 3.10 é possível observar o espectro de  $^1H$  RMN a diferentes temperaturas ( $10^\circ C$ ,  $0^\circ C$ ,  $-10^\circ C$ ,  $-20^\circ C$ ,  $-30^\circ C$  e  $-40^\circ C$ ). Como podemos observar, a temperaturas mais altas parece existir uma mistura de compostos uma vez que aparecem dois sinais correspondentes ao anel ciclopentadienilo com diferentes intensidades, à medida que se baixa a temperatura observa-se a presença de quatro sinais do anel ciclopentadienilo (figura 3.11). Estes quatro sinais parecem ser equivalentes dois a dois, ou seja, aparecem dois sinais mais intensos com a mesma intensidade e dois sinais menos intensos, mas idênticos entre si em termos de intensidade. Observa-se ainda que à medida que se baixa a temperatura, os picos deslocam-se para a esquerda (desblindam), tal pode estar associado às variações das constantes de acoplamento à medida que se baixa a temperatura.

O mesmo padrão é observado no espectro de fósforo deste complexo, aparecem quatro sinais que vão ficando com a mesma intensidade, à medida que se baixa a temperatura (figura 3.12).

Este comportamento pode estar associado à existência de dois isómeros no mesmo complexo.

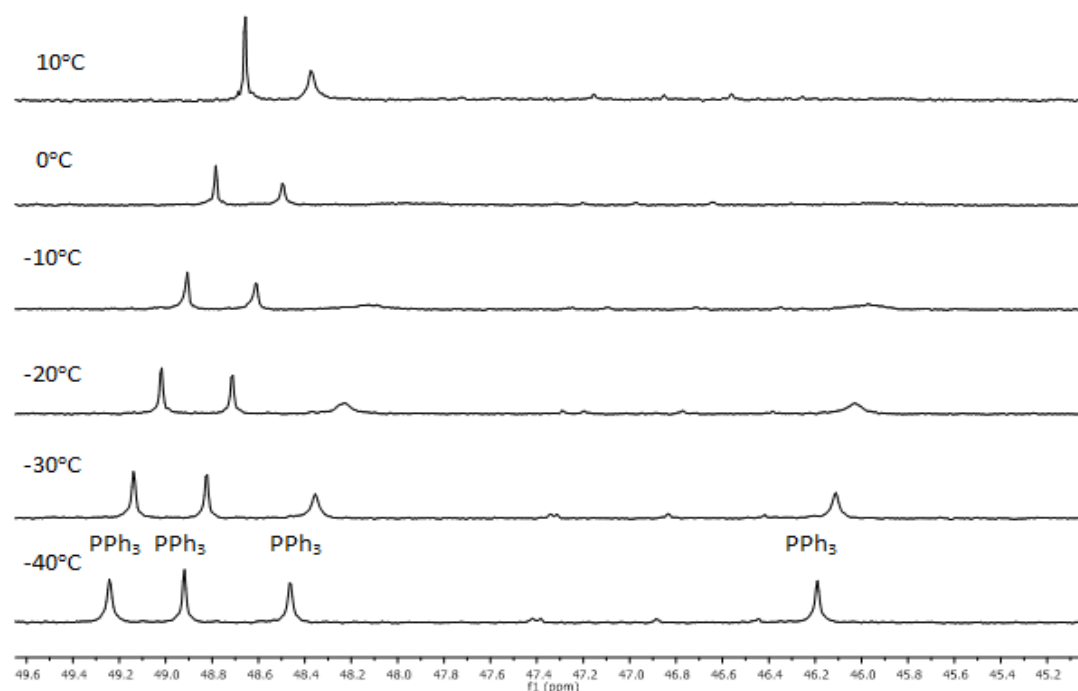


**Figura 3.10** - Sobreposição dos espectros de  $^1\text{H}$  RMN do complexo  $[(\text{PPh}_3)\text{CpRu}(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3]_2$  (9) a diferentes temperaturas (20°C, 0°C, -20°C, -30°C, -40°C), em acetona- $d_6$ .



**Figura 3.11** - Sobreposição dos espectros ampliados de  $^1\text{H}$  RMN do complexo  $[(\text{PPh}_3)\text{CpRu}(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3]_2$  (9) a diferentes temperaturas (20°C, 0°C, -20°C, -30°C, -40°C), em acetona- $d_6$ .





**Figura 3.12** - Sobreposição dos espectros  $^{31}\text{P}$  RMN do complexo  $[(\text{PPh}_3)\text{CpRu}(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3]_2$  (9) a diferentes temperaturas ( $20^\circ\text{C}$ ,  $0^\circ\text{C}$ ,  $-20^\circ\text{C}$ ,  $-30^\circ\text{C}$ ,  $-40^\circ\text{C}$ ), em acetona- $d_6$ .

### 3.4- Análise elementar

Pela análise elementar do complexo  $[(\text{PPh}_3)\text{CpRu}(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3]_2$  (9) (tabela 3.3) verifica-se que os resultados experimentais estão de acordo com os resultados teóricos, havendo uma ligeira diferença de 0,6% nas percentagens de carbono, o que leva a querer que o complexo formado foi o desejado.

Mais estudos terão de ser feitos para se confirmar a formação deste complexo, nomeadamente estudos DFT para se verificar a possível existência de dois isómeros

**Tabela 3.3** - Percentagem C, H, N e S determinada por análise elementar ao complexo  $[(\text{PPh}_3)\text{CpRu}(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3]_2$  (9).

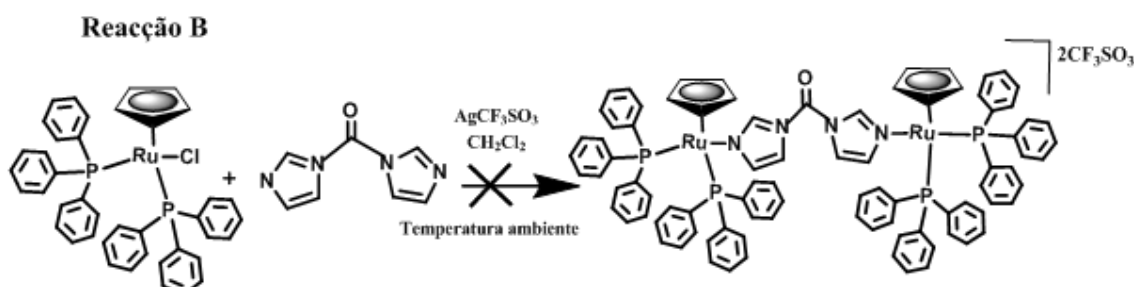
	C	H	N	S
% Teórico	53,6	3,6	4,0	4,6
% Experimental	54,2	3,7	4,2	4

### 3.5- Sínteses inconclusivas

De modo a sintetizar novos complexos bimetalicos, realizaram-se outras sínteses, no entanto em algumas delas não se conseguiu identificar o complexo obtido ou o complexo não era o desejado. O objectivo destas sínteses era obter o complexo binuclear Ru(II)-Ru(II) e um precursor para a síntese de complexos com três centros metálicos.

No presente tópico serão apresentadas e discutidas as sínteses realizadas e as conclusões obtidas.

### 3.5.1-Reacção B



**Esquema 3.3** – Esquema da reacção do complexo  $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}][\text{CF}_3\text{SO}_3]$  com o ligando 1,1'-carbonildiimidazole.

Nesta reacção utilizou-se o ligando 1,1'-carbonildiimidazole para funcionar como ponte na ligação de dois centros metálicos (Ru(II)-Ru(II)). O objectivo era formar o complexo binuclear Ru(II)-Ru(II) representado no esquema 3.3.

Dissolveu-se o complexo  $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}][\text{CF}_3\text{SO}_3]$  em diclorometano, a este adicionou-se triflato de prata, deixando-se a mistura a agitar a temperatura ambiente durante uma hora, em seguida colocou-se o 1,1'-carbonildiimidazole na mistura reacional e refluxou-se durante 6 horas. Recristalizou-se o composto verde formado em diclorometano/n-hexano tendo-se obtido monocristais.

Pela análise do espectro de protão (figura XV de anexos IV) a integração dos sinais coincide com a estrutura inicialmente pretendida, um complexo binuclear tendo como centro metálico o ruténio, estando as duas estruturas de ruténio coordenadas através do ligando 1,1'-carbonildiimidazole.

A partir da análise elementar deste complexo, verificou-se que os valores experimentais não eram concordantes com os valores teóricos (tabela 3.4).

**Tabela 3.4** - Percentagem de C, H, N e S determinada por análise elementar ao complexo formado na reacção B.

	C	H	N	S
% Teórico	63,9	4,5	3,3	1,89
% Experimental	56,6	4,4	3,1	3

Os cristais obtidos foram analisados por difracção de raios-X, pela Doutora Fátima Piedade no Instituto Superior Técnico, tornando possível verificar que o produto formado continha o ligando imidazole (Im) em vez do CDI. Embora a análise de NMR sugerisse que o composto formado era o composto binuclear pretendido, uma vez que estando coordenado ao ligando imidazole o número de sinais é o mesmo que deveria aparecer no complexo binuclear, uma vez que este seria simétrico.

Este complexo foi estudado por voltametria cíclica, tendo-se observado 2 processos irreversíveis a potenciais positivos ( $E_{pa} = 1,02 \text{ V}$  e  $E_{pa} = 1,38 \text{ V}$ ) e um processo irreversível a potenciais negativos ( $E_{pc} = -0,66 \text{ V}$ ) (tabela 3.5). Estes resultados estão concordantes com os resultados de um complexo análogo, que tem como contra-íão o  $\text{PF}_6^-$  [24].

**Tabela 3.5** – Dados electroquímicos dos complexos [RuCp(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Im][CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>] e [RuCp(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(Im)][PF<sub>6</sub>] em diclorometano e acetonitrilo.

	E <sub>pa</sub> (V)	E <sub>pc</sub> (V)	E <sub>1/2</sub> (V)	E <sub>pa</sub> – E <sub>pc</sub> (mV)	I <sub>pc</sub> /I <sub>pa</sub>
<b>Diclorometano</b>					
Im	a)	a)	a)	a)	a)
[RuCp(PPh <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (Im)] <sup>+</sup> X <sup>-</sup> = CF <sub>3</sub> SO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	1.29	1.12	—	170	—
[RuCp(PPh <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (Im)] <sup>+</sup> [24] X <sup>-</sup> = PF <sub>6</sub> <sup>-</sup>	1.10	1.02	1.06	80	1.0
<b>Acetonitrilo</b>					
Im	1.42	—	—	—	—
	—	-0.88	—	—	—
[RuCp(PPh <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (Im)] <sup>+</sup> X <sup>-</sup> = CF <sub>3</sub> SO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	1.38	—	—	—	—
	1.02	—	—	—	—
	—	-0.66	—	—	—
[RuCp(PPh <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (Im)] <sup>+</sup> [24] X <sup>-</sup> = PF <sub>6</sub> <sup>-</sup>	1.25	—	—	—	—
	0.92	—	—	—	—
	—	-0.47	—	—	—

a) O ligando Imidazole (Im) não é solúvel em diclorometano

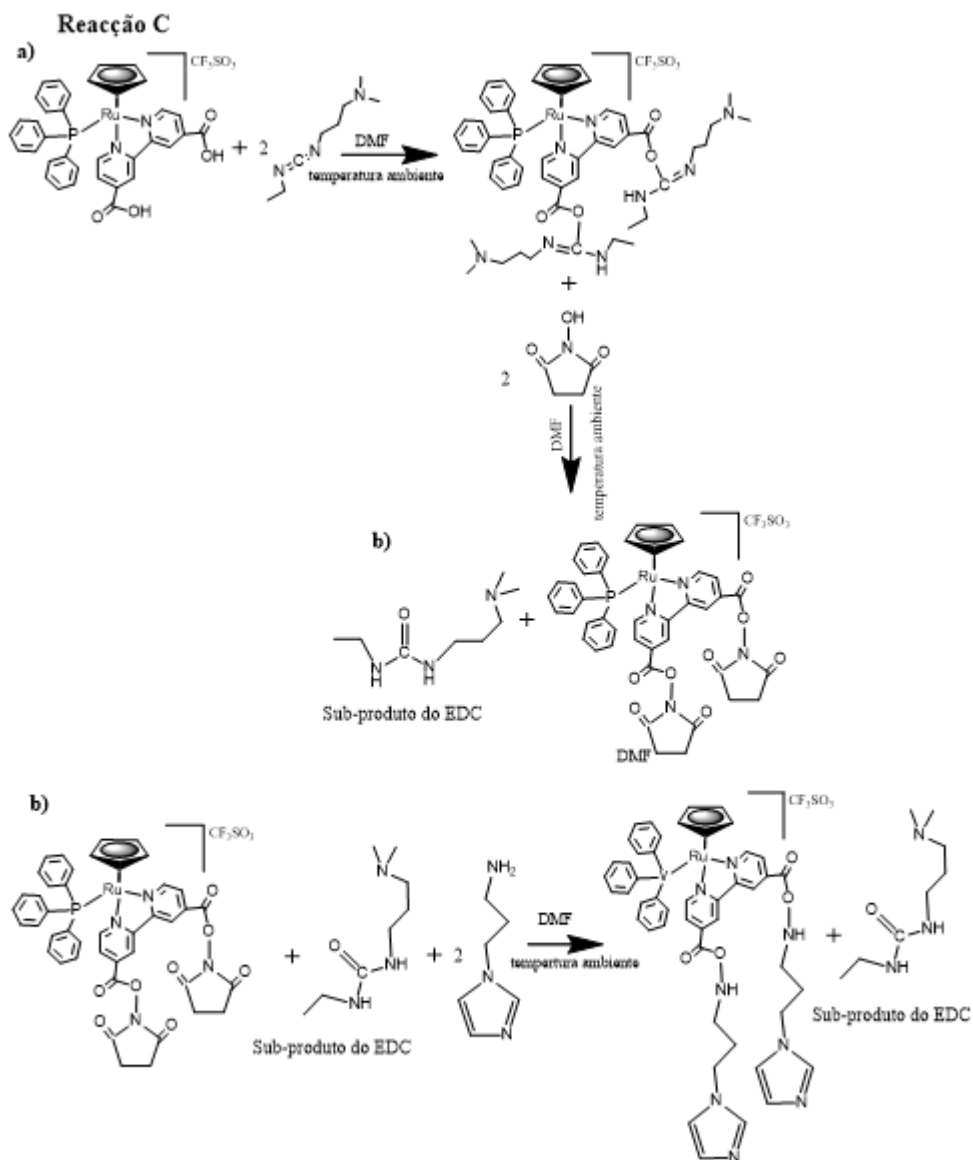
O imidazole poderá ter-se formado pela presença de água na solução, visto que, a mesma provoca um conjunto de reacções que por sua vez conduzem à passagem do ligando 1,1'-carbonildiimidazole a ligando imidazole coordenado ao complexo metálico, este conjunto de reacções já foi observado [43].

Após a identificação do complexo formado voltou-se a comparar os valores experimentais da análise elementar com os valores teóricos para este complexo e verificou-se que os valores estão concordantes (tabela 3.6). Com este conjunto de resultados chegou-se à conclusão que o complexo formado foi o [RuCp(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Im][CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>].

**Tabela 3.6** - Percentagem de C, H, N e S determinada por análise elementar do complexo formado na reacção B.

	C	H	N	S
% Teórico	59,5	4,2	3,1	3,5
% Experimental	56,6	4,4	3,1	3

### 3.5.2-Reacção C



**Esquema 3.4** – Esquema da reação do complexo  $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)(\text{dcbpy})][\text{CF}_3\text{SO}_3]$  com o ligando EDC e o ligando N-hidroxissucínimida (a) e do complexo formado em a) com o ligando 1-(3-aminopropil)imidazole b).

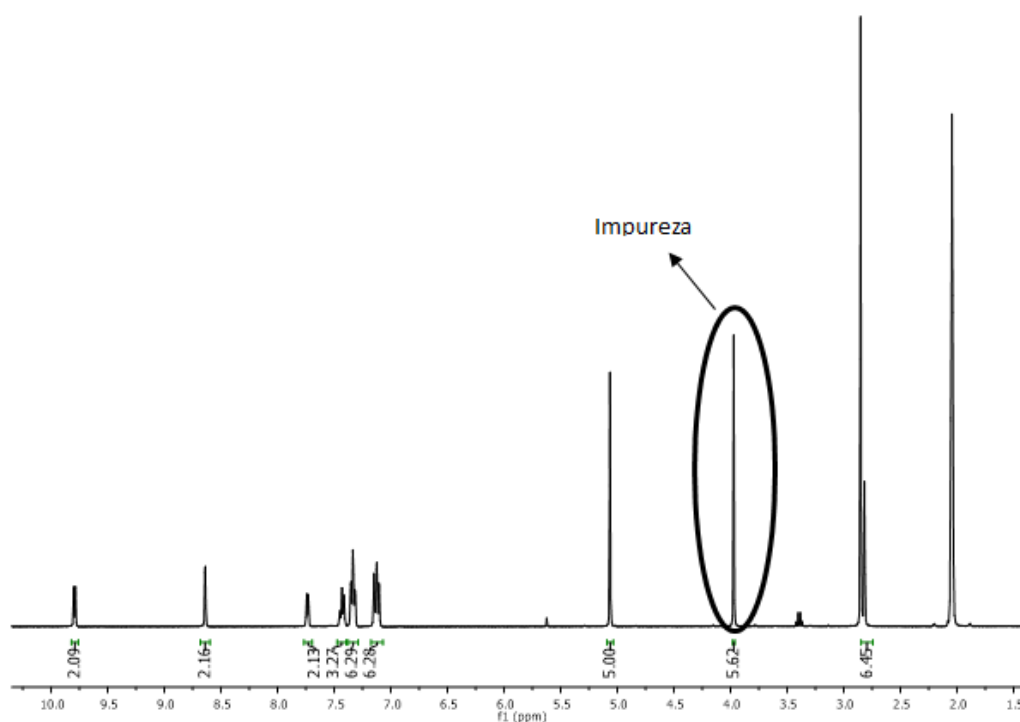
O objectivo é formar um complexo precursor com a reacção entre o EDC e o complexo  $[\text{Ru}(\text{Cp})(\text{PPh}_3)(\text{dcbpy})][\text{CF}_3\text{SO}_3]$ , este precursor irá reagir com a hidroxissucínimida (esquema 3.4 a)). Em seguida fazia-se reagir o composto obtido da reacção anterior com uma amina para formar uma ligação peptídica, este último complexo iria servir para obter um complexo com três centros metálicos.

Dissolveu-se o complexo  $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)(\text{dcbpy})][\text{CF}_3\text{SO}_3]$  em 4,2 ml de DMF, arrefeceu-se a solução, num banho de gelo, a aproximadamente  $2^\circ\text{C}$ . A esta solução foi adicionado o N-hidroxissucínimida e o N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida hidrocloreto (EDC), deixou-se a mistura a agitar durante 5 minutos no banho de gelo e durante a noite a temperatura ambiente. Evaporou-se o solvente dando origem a um óleo preto.

De modo a purificar o composto obtido colocou-se o mesmo numa coluna cromatográfica com o eluente acetato de etilo:hexano de razão três para um (3:1).

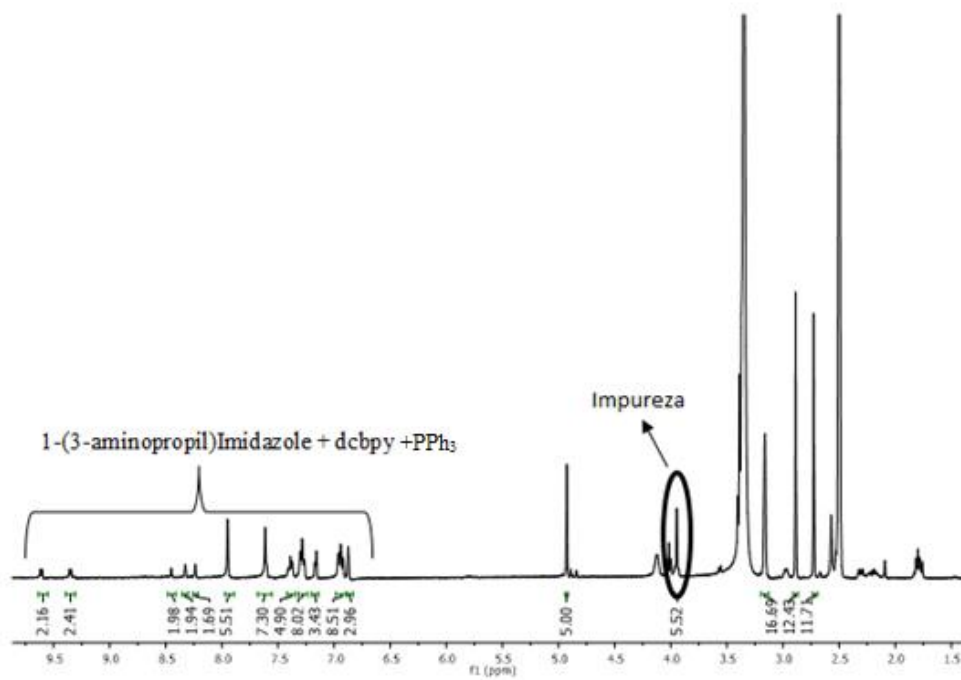
O produto obtido pela coluna era o produto pretendido, no entanto continha impurezas que não se conseguiram remover.

Com o objectivo de purificar o complexo esta reacção foi repetida várias vezes, utilizaram-se diferentes eluentes e diferentes tipos de lavagem do composto obtido, no entanto não se conseguiu retirar as impurezas, como se pode verificar no espectro de  $^1\text{H}$  RMN (figura 3.13).



**Figura 3.13** - Espectro de  $^1\text{H}$  RMN do composto obtido na reacção C a)

No entanto, nunca se conseguiu separar o sub-produto formado pelo EDC do complexo obtido. Ainda assim fez-se reagir o complexo obtido com o ligando 1-(3-aminopropil)imidazole (esquema 3.4 b)), numa tentativa de que o complexo formado pudesse ter uma solubilidade diferente da impureza, tornando-a mais fácil de remover. Efectivamente conseguiu-se coordenar o ligando 1-(3-aminopropil)imidazole ao complexo, no entanto após serem feitas diversas recristalizações, o sub-produto do EDC permaneceu como pode ser observado pelo espectro de  $^1\text{H}$  RMN (figura 3.14).



**Figura 3.14** - Espectro de próton do complexo obtido da reacção C b)

---

# Capítulo 4

---

*Avaliação Biológica*

## 4- Avaliação Biológica

Este trabalho teve como objectivo a síntese e caracterização de complexos inorgânicos de Cu(I)-Cu(I) e organometálicos Ru(II)-Cu(I) e Ru(II)-Ru(II) com vista à sua aplicação como potenciais agentes anticancerígenos.

A avaliação biológica é de extrema importância durante o desenvolvimento de um fármaco, esta permite testar propriedades, como a selectividade, a citotoxicidade e determinar os mecanismos de acção, sendo crucial no desenvolvimento de um potencial fármaco. A citotoxicidade permite avaliar os efeitos anti-proliferativos que uma substância possui.

Neste capítulo serão apresentados os resultados de citotoxicidade dos complexos sintetizados em quatro linhas tumorais celulares humanas e numa linha celular humana não tumoral e os resultados obtidos num estudo de produção de espécies de oxigénio reactivas (ROS).

Os estudos apresentados neste capítulo foram realizados pela Doutora Fernanda Marques, no Centro de Ciências e Tecnologias Nucleares (C<sub>2</sub>TN) do Instituto Superior Técnico (IST).

### 4.1-Avaliação das propriedades citotóxicas dos complexos

As propriedades citotóxicas dos complexos foram avaliadas através de um ensaio colorimétrico MTT, cuja finalidade é quantificar o crescimento, a viabilidade e a proliferação celular. Os resultados são expressos em valores de IC<sub>50</sub>, que dão uma indicação da concentração de um complexo necessária para inibir a população celular em 50%.

Os ensaios foram realizados *in vitro* em quatro linhas celulares cancerígenas, duas linhas do carcinoma do ovário (A2780 e A2780cisR), duas linhas do carcinoma da mama (MCF7, MDA-MB-231), e ainda numa linha celular humana saudável embrionária do rim (HEK293).

A linha MCF7 foi escolhida por ocorrer com uma grande frequência, enquanto a linha MDA-MB-231 foi utilizada por ainda não existir um tratamento eficaz. Relativamente às linhas cancerígenas do carcinoma do ovário, apesar de ocorrerem com menor frequência que as anteriores, despertam interesse devido às taxas de sobrevivência serem baixas, como é o caso da linha A2780, e por alguns dos carcinomas serem resistentes à cisplatina, é exemplo a linha A2780cisR [44].

#### 4.1.1- Actividade citotóxica na linha celular tumoral humana do carcinoma da mama (MDA-MB-231)

A citotoxicidade dos compostos 1 - 4 e 7 foi avaliada *in vitro* na linha celular do carcinoma da mama (MDA-MB-231). Esta é uma linha celular muito agressiva e altamente metastizável, caracterizada pela ausência de receptores de estrogénio, progesterona e HER2 (receptor tipo 2 do factor de crescimento epidérmico humano), o que dificulta a existência de tratamentos eficientes. A cisplatina não foi usada como referência neste estudo por não ser activa nesta linha celular [45].

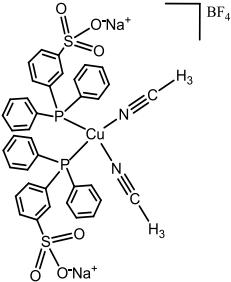
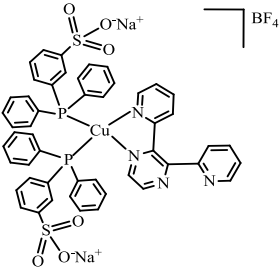
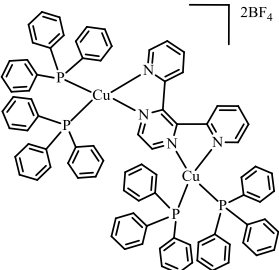
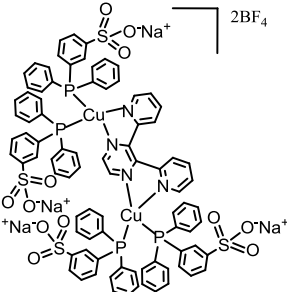
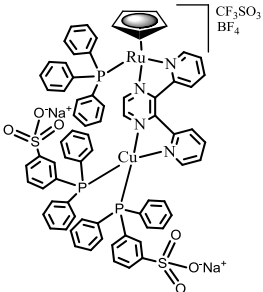
Na tabela 4.1 são apresentados os valores de IC<sub>50</sub> obtidos para os vários complexos estudados. É possível observar que os complexos [(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cu(μ-dpp)Cu(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>][BF<sub>4</sub>]<sub>2</sub> (3) e [Cu(*m*TPPMSNa)<sub>2</sub>(μ-dpp)RuCp(PPh<sub>3</sub>)][CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>][BF<sub>4</sub>] (7) são muito activos nesta linha celular com valores de IC<sub>50</sub> de 2,53 e 0,44 μM respectivamente. Verifica-se ainda que os complexos apenas com o cobre como centro metálico coordenado ao trifenilfosfano sulfonado não são activos nesta linha celular. Curiosamente o complexo [Cu(*m*TPPMSNa)<sub>2</sub>(μ-dpp)RuCp(PPh<sub>3</sub>)][CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>][BF<sub>4</sub>] (7) que apresenta um menor valor de IC<sub>50</sub> contém o fosfano sulfonado, no entanto a citotoxicidade apresentada poderá estar relacionada ao complexo de ruténio, podendo este ser a parte activa deste complexo, uma vez que os complexos de cobre estudados nesta linha celular não apresentaram actividade. Para se perceber que a actividade do



complexo  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (7) se deve à presença do ruténio, o mesmo estudo deverá ser realizado para os precursores deste complexo.

Tal como foi referido anteriormente, esta é uma linha muito agressiva, cujos tratamentos não são eficientes, o facto destes complexos não serem activos na linha celular MDA-MB-231, não quer dizer que não sejam em outras linhas, como tal, deverão ser alvo de mais estudos de citotoxicidade em outras linhas celulares.

**Tabela 4.1** - Valores de IC<sub>50</sub> obtidos para os complexos 1-4 e 7 na linha celular MDA-MB-231 (48h, 37°C).

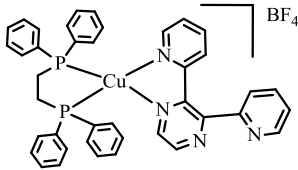
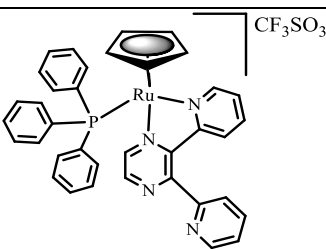
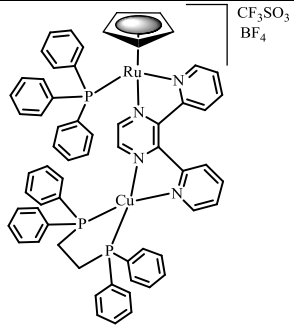
Complexos	Estrutura dos complexos	IC <sub>50</sub> (μM)
<p>Complexo 1</p> <p>[Cu(<i>m</i>TPPMSNa)<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>CN)<sub>2</sub>][BF<sub>4</sub>]</p>		164±34.0
<p>Complexo 2</p> <p>[Cu(<i>m</i>TPPMSNa)<sub>2</sub>dpp][BF<sub>4</sub>]</p>		292±64.5
<p>Complexo 3</p> <p>[(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cu(μ-dpp)Cu(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>][BF<sub>4</sub>]<sub>2</sub></p>		2.53±1.12
<p>Complexo 4</p> <p>[(<i>m</i>TPPMSNa)<sub>2</sub>Cu(μ-dpp)Cu(<i>m</i>TPPMSNa)<sub>2</sub>][BF<sub>4</sub>]<sub>2</sub></p>		133±34.6
<p>Complexo 7</p> <p>[Cu(<i>m</i>TPPMSNa)<sub>2</sub>(μ-dpp)RuCp(PPh<sub>3</sub>)] [CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>][BF<sub>4</sub>] (7)</p>		0.44±0.91

#### **4.1.2- Actividade citotóxica nas linhas celulares tumorais humanas do carcinoma da mama (MCF7) e do carcinoma do ovário (A2780, A2780cisR)**

A actividade citotóxica do complexo  $[\text{Cu}(\text{dppe})(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (8) foi avaliada em três linhas celulares cancerígenas, duas do cancro do ovário (A2780 e A2780cisR) e uma do cancro da mama (MCF7). Na tabela 4.2, são apresentados os valores de  $\text{IC}_{50}$  do complexo 8, dos seus precursores ( $[\text{Cu}(\text{dppe})(\text{dpp})][\text{BF}_4]$  e  $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)(\text{dpp})][\text{CF}_3\text{SO}_3]$ ) e da cisplatina, o complexo de referência para as linhas celulares tumorais MCF7 e A2780. O complexo 8 e os seus precursores apresentaram valores de  $\text{IC}_{50}$  na ordem dos micromolar nestas linhas, comparando estes valores com os valores do complexo de referência, os complexos estudados no geral mostram ser até 10 vezes mais activos na linha celular A2780 e 100 vezes mais citotóxicos na linha celular MCF7 que a cisplatina, o fármaco usado clinicamente. Nas linhas cancerígenas estudadas, não se observam diferenças significativas nos valores de  $\text{IC}_{50}$  obtidos para os três complexos. Comparando os valores de  $\text{IC}_{50}$  obtidos para o complexo bimetálico com os obtidos para os seus precursores (complexos mononucleares), estes valores sugerem que não existem vantagens no uso de complexos binucleares, visto não se observarem diferenças significativas nos valores de  $\text{IC}_{50}$ . Para se verificar as possíveis potencialidades dos complexos bimetálicos em relação aos mononucleares, deverá ser realizada uma análise mais detalhada, onde se deverão efectuar estudos de distribuição celular para verificar se a localização e a percentagem do complexo presente no interior da célula.

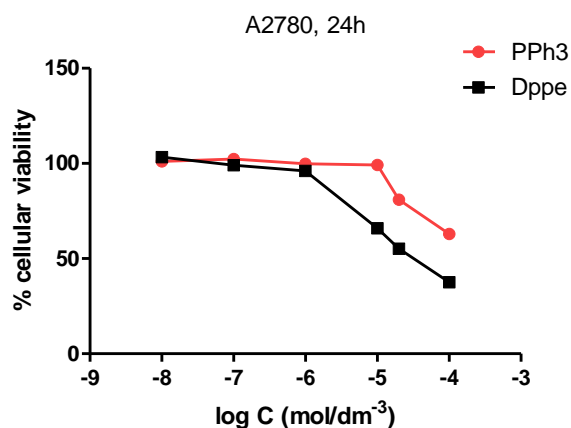
Comparando os valores obtidos nas duas linhas celulares verifica-se que a linha MCF7 parece ser mais sensível a este tipo de complexos, uma vez que os complexos apresentam valores de  $\text{IC}_{50}$  inferiores aos obtidos para a linha celular A2780.

**Tabela 4.2** – Valores de IC<sub>50</sub> obtidos para os complexos, [Cu(dppe)(μ-dpp)RuCp(PPh<sub>3</sub>)](CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>)[BF<sub>4</sub>] (8), [Cu(dppe)(dpp)][BF<sub>4</sub>], [RuCp(PPh<sub>3</sub>)(dpp)](CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>), [Cu(dppe)(CH<sub>3</sub>CN)][BF<sub>4</sub>] e para a cisplatina nas linhas celulares A2780 e MCF7 (24h, 37°C).

Compostos	Linhas celulares tumorais/IC <sub>50</sub> (μM)	
	A2780	MCF7
 [Cu(dppe)(dpp)][BF <sub>4</sub> ]	2.59±0.50	0.80±0.34
 [RuCp(PPh <sub>3</sub> )(dpp)](CF <sub>3</sub> SO <sub>3</sub> )	3.28±1.7	0.61±0.18
 [Cu(dppe)(μ-dpp)RuCp(PPh <sub>3</sub> )](CF <sub>3</sub> SO <sub>3</sub> )[BF <sub>4</sub> ] (8)	2.73±1.1	0.57±0.21
[Cu(dppe)(CH <sub>3</sub> CN)][BF <sub>4</sub> ]	1,73±0,40	-----
Cisplatina	36 ± 8	59±12

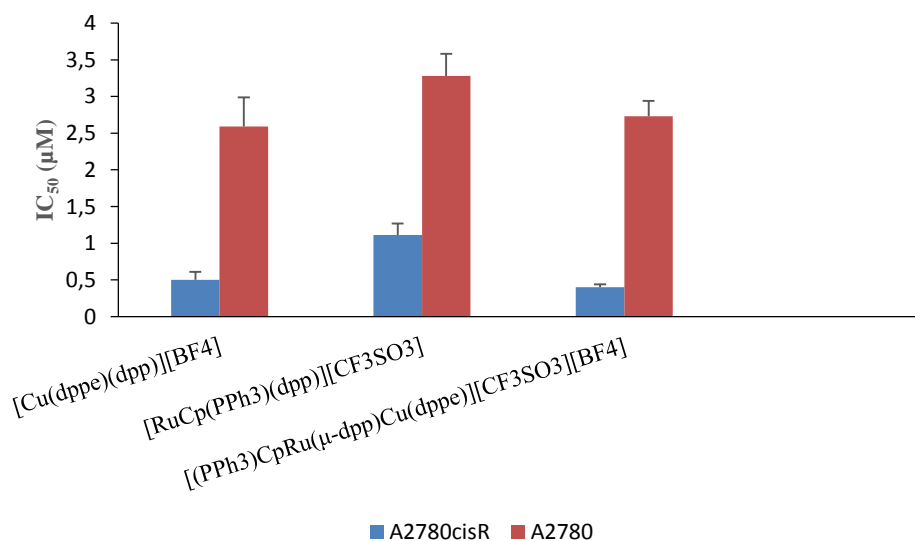
A citotoxicidade dos ligandos dpp (2,3-bis(2-piridil)pirazina), PPh<sub>3</sub> (trifenilfosfano) e da dppe (1,2-difenilfosfinoetano) também foi avaliada na linha celular do ovário (A2780), nas mesmas condições experimentais que os complexos. O ligando dpp e o fosfano PPh<sub>3</sub> não são citotóxicos após 24h de tratamento, apenas a dppe apresenta um valor de IC<sub>50</sub> de 30,9 ± 7,9 μM (figura 4.1). Estes resultados mostram que a coordenação dos ligandos orgânicos ao centro metálico melhora consideravelmente a citotoxicidade do complexo. Quando estes ligandos se coordenam ao metal, o

complexo formado apresenta valores de citotoxicidade inferiores aos apresentados pelos ligandos livres.



**Figura 4.1** – Viabilidade celular (%) dos fosfanos, PPh<sub>3</sub> (vermelho) e dppe (preto) na linha celular A2780 (24h, 37°C).

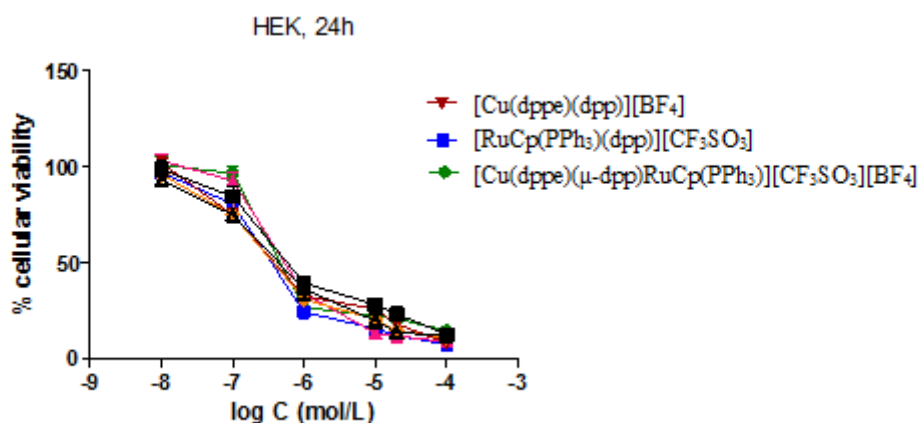
De forma a perceber se os complexos conseguem superar os problemas associados à resistência que algumas linhas celulares adquirem aos fármacos, avaliou-se a citotoxicidade do complexo [Cu(dppe)(μ-dpp)RuCp(PPh<sub>3</sub>)] [CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>] [BF<sub>4</sub>] (8), e dos seus precursores numa linha celular do ovário resistente à cisplatina, A2780cisR. Observou-se que os complexos são 3 a 5 vezes mais citotóxicos para a linha celular A2780cisR do que para a A2780 (figura 4.2), o que indica que este tipo de complexos poderá ultrapassar os problemas associados à resistência da cisplatina.



**Figura 4.2** - Valores de IC<sub>50</sub> obtidos para o complexo [Cu(dppe)(μ-dpp)RuCp(PPh<sub>3</sub>)] [CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>] [BF<sub>4</sub>] (8) e dos seus precursores [Cu(dppe)(dpp)] [BF<sub>4</sub>] e [RuCp(PPh<sub>3</sub>)(dpp)] [CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>] nas linhas celulares A2780cisR e A2780 (24h, 37°C).

#### 4.1.3- Actividade citotóxica na linha celular não-tumoral humana embrionária do rim (HEK293)

Foram realizados estudos de citotoxicidade com o complexo  $[\text{Cu}(\text{dppe})(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (8) e os seus precursores  $[\text{Cu}(\text{dppe})(\text{dpp})][\text{BF}_4]$  e  $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)(\text{dpp})][\text{CF}_3\text{SO}_3]$  (figura 4.3), numa linha celular não tumoral humana embrionária do rim (HEK293). Os resultados de  $\text{IC}_{50}$  obtidos foram da mesma ordem de grandeza que os encontrados para as linhas celulares cancerígenas estudadas, o que indica que os complexos não são selectivos para as células tumorais.



**Figura 4.3** - Viabilidade celular (%) para o complexo  $[\text{Cu}(\text{dppe})(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (8) (verde) e dos seus precursores  $[\text{Cu}(\text{dppe})(\text{dpp})][\text{BF}_4]$  (vermelho) e  $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)(\text{dpp})][\text{CF}_3\text{SO}_3]$  (azul) na linha celular não tumoral HEK (24h).

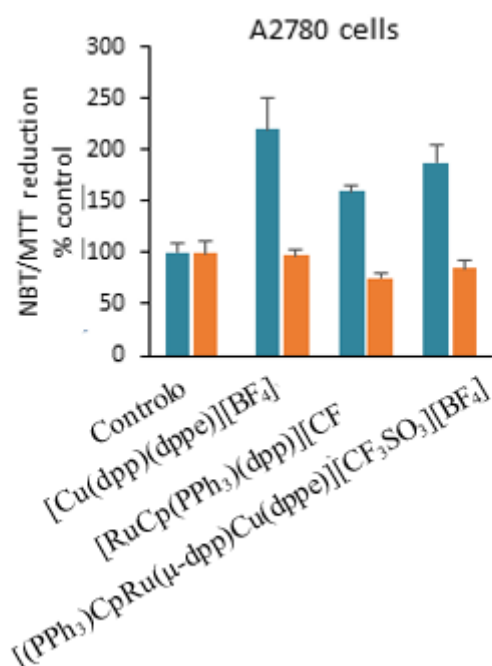
#### 4.2- Produção de espécies de oxigénio reactivas (ROS)

As espécies de oxigénio reactivas (ROS) são resultantes do oxigénio molecular, os radicais superóxidos, o peróxido de hidrogénio e oxigénio singleto são exemplos deste tipo de espécies. Estas espécies podem dar origem a um tumor, originando deformações no ADN e mutações, no entanto quando a produção de ROS não é controlada pode causar apoptose, transformando-se em supressores tumorais [46].

O ensaio de nitrozul de tetrazólio (NBT) foi realizado para ajudar clarificar se a produção de ROS é o mecanismo de acção do complexo  $[\text{Cu}(\text{dppe})(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (8), uma vez que já foi demonstrado para vários complexos de cobre que o seu mecanismo de acção está relacionado com a sua habilidade em produzir espécies de oxigénio reactivas [31]. A redução do NBT para formazano azul insolúvel, foi usada como sonda para a geração de superóxidos, no entanto esta redução não é exclusiva para superóxidos. A conversão NBT ocorre intracelularmente através da oxidase mitocondrial o que difere do ensaio MTT que é convertido por oxidase intra e extra mitocondrial, ou seja, se os resultados para os dois ensaios forem semelhantes existe uma forte possibilidade que o mecanismo de acção deste tipo de complexos seja a produção de espécies reactivas de oxigénio [47].

Assim, o ensaio NBT foi realizado em paralelo com o ensaio MTT, inicialmente os complexos aumentam os níveis de ROS, fazendo com que a produção dos mesmos seja mais elevada quando

comparada com as produzidas pela substância controlo. Com o decorrer do tempo não se observou correlação entre os valores obtidos para os ensaios NBT e MTT (figura 4.4), o que poderá indicar que a produção de espécies de oxigénio reactivas não seja o mecanismo de acção destes complexos.



**Figura 4.4** – Produção de espécies de oxigénio reactivas (ROS) do complexo [Cu(dppe)(μ-dpp)RuCp(PPh<sub>3</sub>)][CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>][BF<sub>4</sub>] (8) e dos seus precursores [Cu(dppe)(dpp)][BF<sub>4</sub>] e [RuCp(PPh<sub>3</sub>)(dpp)][CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>] por dois ensaios, NBT e MTT

Face ao conjunto de resultados expostos neste capítulo não foi possível esclarecer o modo de acção destes complexos, sendo necessários mais estudos para se ter uma melhor percepção sobre os modos de acção dos mesmos.

---

# Capítulo 5

---

*Um olhar sobre a indústria farmacêutica*

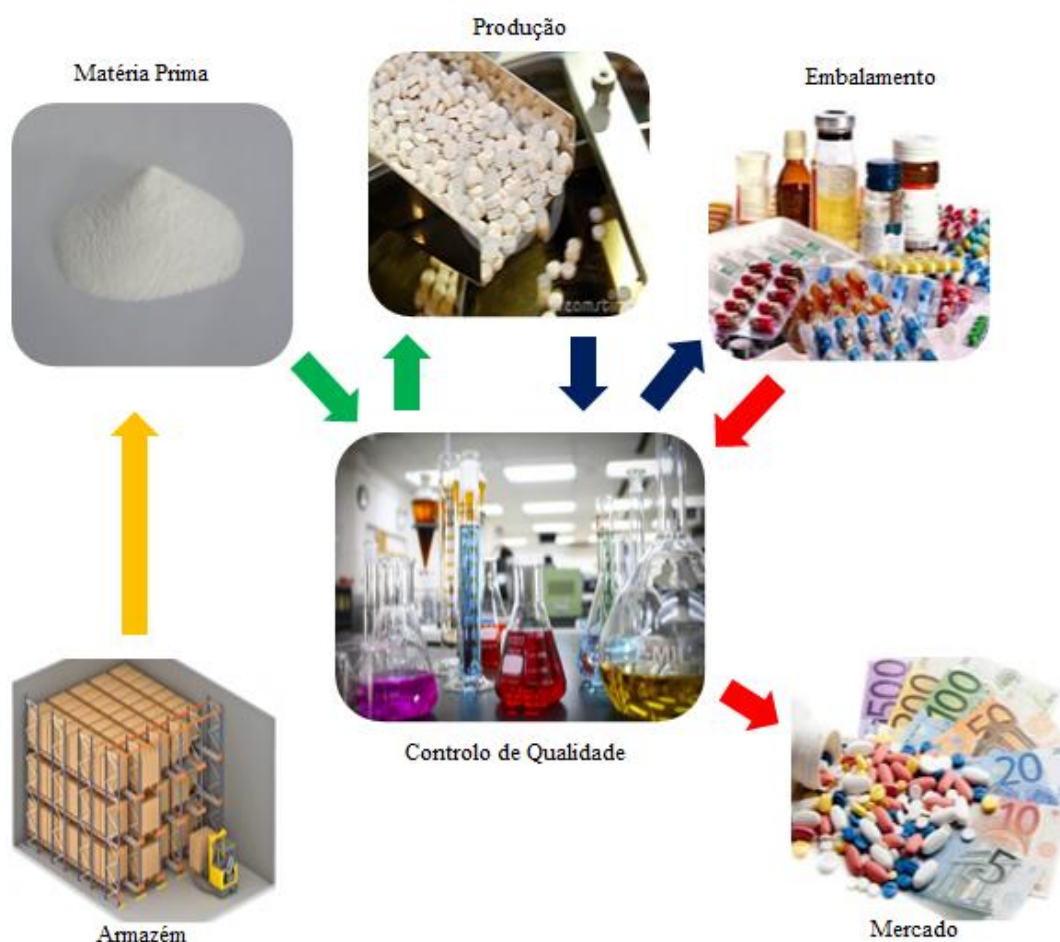


## 5 - Um olhar sobre a indústria farmacêutica

Parte deste projecto de Mestrado em Química Tecnológica consistiu num estágio de um mês na empresa Iberfar, Indústria Farmacêutica S.A. O objectivo deste estágio foi acompanhar todo o processo industrial de um fármaco, desde a recepção da matéria-prima até à embalagem. A Iberfar, Indústria Farmacêutica, S.A. presta serviço numa das áreas mais exigentes do mercado, a indústria farmacêutica, requerendo, por isso, elevados padrões de qualidade. A principal área de negócio desta empresa é a produção de fármacos sólidos e líquidos para terceiros [48].

Todas as etapas da produção desde a chegada da matéria-prima à embalagem do fármaco serão descritas neste capítulo.

Na figura 5.1 está esquematizado todo o processo de produção de um fármaco.



**Figura 5.1** - Representação esquemática do processo de produção de um medicamento, desde a chegada da matéria-prima ao embalamento do produto final.

### 5.1 – Etapas para o processo de produção de um medicamento

Seguidamente irão ser descritas todas as etapas necessárias para a produção de um fármaco, desde a chegada das matérias-primas ao armazém até á embalagem do fármaco preparado e devidamente analisado para ser distribuído no mercado.

### **5.1.1 - No armazém**

É no armazém que se dá a recepção das matérias-primas, as quais são recebidas em embalagens/contentores devidamente acondicionadas. Após a recepção das mesmas, as dimensões e as condições de selagem das embalagens são verificadas bem como a validade e o lote do fabricante.

### **5.1.2 - Recolha da Matéria-prima**

Após a recepção da matéria-prima (entende-se como matéria-prima excipientes, princípios activos e cápsulas), esta é recolhida se as condições de selagem e as características visuais, como a coloração estejam de acordo com o que se encontra especificado.

Todos os excipientes e princípios activos são identificados por espectroscopia do infravermelho próximo (NIR) antes de seguirem para o controlo de qualidade. Nesta técnica é utilizada uma sonda, que quando colocada em contacto com os excipientes e princípios activos vai funcionar como detector, e é através do espectro obtido e recorrendo a uma base de dados que se confirma que a substância que se encontra armazenada é realmente a substância pretendida.

Em seguida a matéria-prima segue para o laboratório de controlo de qualidade onde são realizadas diversas análises físico-químicas e ensaios microbiológicos. Para cada matéria-prima existe um “método analítico” (procedimento fornecido pelo cliente), onde se encontram indicadas as análises que têm de ser efectuadas, bem como a especificação de cada ensaio analítico.

A importância dos ensaios microbiológicos na matéria-prima é garantir a ausência de microorganismos prejudiciais para saúde humana.

Os excipientes e os princípios activos são sujeitos a diversas análises físico-químicas, como análises colorimétricas para identificação de cloretos, espectroscopia de infravermelho (FT-IR) para identificar os grupos funcionais presentes, condutimetria, pontos de fusão, índices de acidez e cromatografia em camada fina, que permite verificar se existe uma determinada substância química presente.

Se o conjunto destas análises cumprir as especificações pretendidas para a matéria-prima é dado o aval à produção para proceder às pesagens.

### **5.1.3 - Produção**

Nesta unidade, a Iberfar, Indústria Farmacêutica SA tem como objectivo transformar a matéria-prima em fármacos sejam eles sólidos (comprimidos) ou líquidos (xaropes).

Os princípios activos e os excipientes são pesados e colocados em contentores seguindo para a sala de misturas onde são homogeneizados, onde vai ocorrer a junção do princípio activo com o excipiente, a produção do fármaco. Seguidamente inicia-se o processo de granulação que visa melhorar as propriedades de compressibilidade de uma mistura de pós, por vezes para facilitar a homogeneização da amostra são utilizados líquidos (surfactantes). Após a granulação, segue-se a compressão ou o encapsulamento do produto. Alguns fármacos são revestidos com o objectivo de retardar a libertação do princípio activo, de mascarar o sabor, o odor e/ou a cor. Para mascarar o sabor e o odor por vezes é necessário recorrer a revestimentos mais complexos com açúcares, estes processos denominam-se de revestimento e drageificação respectivamente.

Ao longo deste processo vão sendo retiradas amostras do produto obtido que é analisado na sala de controlo em processo, de modo a garantir que o produto obtido está de acordo com os

requisitos pretendidos no que respeita ao tamanho, espessura, desagregação e à percentagem de humidade.

Diariamente é também realizado um estudo microbiológico à área da produção, para garantir que não existem microorganismos nas unidades de produção.

No término do lote a produção responsabiliza-se por enviar ao controlo de qualidade uma amostra média do lote produzido, isto é, uma amostra inicial, média e final.

#### 5.1.4 - Produto semi-acabado

Após o processo de produção, o produto obtido passa a ser denominado de produto semi-acabado, produto que já foi sujeito a todas as fases de fabrico excepto da embalagem, este segue para o laboratório de controlo de qualidade. De forma a garantir a viabilidade do produto semi-acabado, este é sujeito a várias análises físico-químicas para determinar, a percentagem média de princípio activo presente no fármaco, impurezas, a homogeneidade do lote, a percentagem de água presente, a quantidade de princípio activo que é libertado em solução, a solubilidade dos fármacos, espessura a dureza e o diâmetro, a viscosidade e densidade dos xaropes.

Para determinar a percentagem média de princípio activo presente no fármaco, faz-se uma **análise do doseamento**. Segue-se o “método analítico” específico do produto. De modo geral parte-se de uma amostra média de 20 comprimidos e é sempre feita em duplicado, esta amostra é triturada, sendo colocada a quantidade necessária para análise em dois balões volumétricos (2 amostras), e posteriormente dissolvida. Maioritariamente a análise do doseamento é efectuada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). A determinação de percentagem do princípio activo presente no fármaco faz-se contra um padrão de concentração e pureza conhecida. Assim pelas respectivas áreas presentes nos cromatogramas determina-se a percentagem de princípio activo.

Para determinar as impurezas presentes no fármaco, faz-se uma **análise das substâncias relacionadas**. Segue-se o “método analítico” específico do produto. A análise das impurezas é feita a partir de uma amostra média de 20 comprimidos e do mesmo modo que o doseamento é sempre feita em duplicada. Trituram-se os 20 comprimidos sendo colocados em balões volumétricos a quantidade necessária para análise. Esta análise faz-se por HPLC, a determinação das impurezas também pode ser feita contra um padrão de concentração e pureza conhecida. Geralmente são integrados e contabilizados todos os picos do cromatograma excepto o pico correspondente ao solvente bem como o pico correspondente ao princípio activo.

De forma a avaliar a homogeneidade do lote, faz-se uma **análise de uniformidade de conteúdo**. Esta análise tem preparação e determinação análoga à análise de doseamento, porém não se parte de uma amostra média, mas sim de uma amostra individual, onde são colocados 10 comprimidos em balões volumétricos (1 por balão).

Tanto a análise do doseamento como a análise de uniformidade de conteúdo podem ser efectuadas recorrendo à espectroscopia de Ultravioleta-Visível (UV-vis). Porém esta é menos utilizada por ser menos precisa que o HPLC.

A percentagem de água presente é determinada através de uma titulação volumétrica, num titulador Karl Fischer. O fármaco, previamente moído, é colocado no aparelho de Karl Fischer onde vai ser titulado com uma solução de metanol mais *combititran 2* (titulante). Esta solução vai consumir toda a água presente, sendo terminada quando não houver mais água para consumir. A partir do volume total usado da solução de metanol/ *combititran 2* consegue-se determinar a percentagem de água existente no fármaco.

Para determinar a quantidade de princípio activo que é libertado em solução, faz-se uma **dissolução**. Este método consiste em avaliar a percentagem de princípio activo que é libertado durante

um determinado tempo de dissolução do fármaco, este parâmetro varia de fármaco para fármaco, dependendo se o seu efeito é rápido ou se tem libertação prolongada. O fármaco é dissolvido numa solução que mimetize as condições do organismo humano em que este vai actuar. Por exemplo, se um determinado fármaco vai actuar a nível do estômago, a solução a utilizar deve ter um pH baixo, neste caso pode-se utilizar uma solução de ácido clorídrico, de forma a tentar mimetizar a presença do suco gástrico existente no estômago. Coloca-se o fármaco num dissolutor a uma temperatura de 37°C (temperatura corporal) e este com a ajuda de umas pás ou cestas (para os comprimidos) ou em tubos porosos (no caso dos xaropes) dissolve o fármaco. Após terminado o tempo de dissolução, indicado no “método analítico” fornecido pelo cliente, as amostras são analisadas por UV-vis ou HPLC de modo a analisar a percentagem de princípio activo que é libertado, esta análise também se faz contra um padrão de concentração e pureza conhecida.

Para determinar a solubilidade dos fármacos, faz uma **desagregação**. Os fármacos são colocados no aparelho de desagregação com a solução pretendida, na maior parte das vezes é utilizada água, este aparelho vai fazer movimentos ascendentes e descendentes, durante um determinado tempo (indicado no “método analítico”), de forma a dissolver cada um dos comprimidos. No final do tempo associado à desagregação verifica-se se o fármaco se encontra totalmente dissolvido.

A viscosidade dos xaropes é determinada num viscosímetro, e a medição é feita consoante o número de rotações e o tempo pretendido, que se encontra no “método analítico”. Cada agulha utilizada nesta técnica tem um factor associado (erro associado à agulha), e o cálculo da viscosidade determina-se multiplicando o valor lido no viscosímetro pelo factor associado à agulha utilizada.

A espessura a dureza e o diâmetro são determinados a partir de um aparelho de dureza. Para tal colocam-se dez comprimidos no aparelho, devidamente separados, para a medição ser feita a um comprimido de cada vez. Este por acção mecânica vai exercer uma determinada força sobre o comprimido levando a que este se parta. Os valores de dureza, de espessura e do diâmetro são determinados pela média dos resultados dos 10 comprimidos.

A densidade de xaropes é medida num picnómetro onde são realizadas três medições. Enche-se o picnómetro com água e mede-se a sua densidade, em seguida é medida a densidade do ar, picnómetro vazio, e por último a enche-se o picnómetro com o xarope a analisar e é medido a sua densidade. Após cada medição o picnómetro é pesado. A densidade relativa é então determinada pela seguinte equação: 
$$\frac{m(\text{amostra}) - m(\text{vazio})}{m(\text{água}) - m(\text{vazio})}$$

### 5.1.5 - Produto acabado

Nesta fase o produto já foi sujeito a todas as fases de fabrico e já se encontra devidamente embalado. Durante este processo, de modo a assegurar que os produtos, depois do contacto com os blisters, se mantêm isentos de microorganismos prejudiciais à saúde humana estes estão sujeitos a análises microbiológicas. Se todos os requisitos forem cumpridos o produto está pronto a ser comercializado

### 5.1.6 – Estabilidade

De forma a garantir que durante o tempo de validade do fármaco, este continue com as propriedades com que saiu para o mercado, são feitas diversas análises. O tempo a que essas análises são feitas depende do cliente. Após embalados alguns fármacos são guardados em câmaras climáticas, a temperatura e humidade controlada, e só são retirados nas datas em que têm de ser analisados.

Nestas análises, verifica-se a percentagem e a libertação do princípio activo, as impurezas, a desagregação e a percentagem de humidade presentes no fármaco.

Se alguma destas análises não cumprir os requisitos necessários, fornecidos pelo cliente, inicia-se uma investigação aos possíveis erros que possam ter ocorrido durante a análise, se não se conseguir encontrar as causas do erro, os resultados são comunicados ao cliente que seguidamente comunica à entidade reguladora e após a sua verificação pode ser necessário retirar o fármaco do mercado.

Estas análises são uma garantia de que o fármaco se encontra no mercado em condições de ser consumido.

## **5.2 - Segurança e Cuidados Ambientais**

As regras de segurança do laboratório foram sempre cumpridas no que diz respeito ao uso de bata, luvas, óculos e máscara sempre que necessário. Os solventes considerados tóxicos/perigosos foram sempre manuseados dentro de uma hotte.

De acordo com o tipo de resíduo originado procedeu-se à separação do mesmo em solventes halogenados, não halogenados, resíduos sólidos e resíduos perigosos.

---

# Capítulo 6

---

*Execução financeira, segurança e cuidados ambientais*

## 6 – Execução financeira, segurança e cuidados ambientais

Neste capítulo vão ser apresentados os custos associados ao trabalho desenvolvido no Laboratório de Química Organometálica da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, os cuidados com o manuseamento dos solventes e reagentes, bem como os cuidados respeitantes à separação dos resíduos.

### 6.1 – Execução financeira

Na tabela 6.1 encontram-se os custos relativos à parte deste trabalho realizado no Laboratório de Química Organometálica da Faculdade de Ciência da Universidade de Lisboa

**Tabela 6.1** - Custos relativos aos solventes, reagentes e análises realizadas no decorrer do projecto de mestrado em Química Tecnológica.

	Quant. Total	Valor (€)	Quant. Utilizada	Valor (€)
<b>Solventes</b>				
Acetonitrilo, Sigma	1 L	115,50	0,5 L	57,5
Acetato de etilo, Sigma	1 L	118,0	1,5 L	177
Diclorometano, Sigma	1 L	108,50	2,5 L	271,25
DMF, Sigma	1 L	63,60	0,03 L	1,91
Etanol, Sigma	2,5 L	70	0,3 L	8,4
Éter dietílico, Sigma	1 L	86,80	0,5 L	43,4
Hexano, Sigma	1 L	112,0	0,5 L	56
Metanol, Sigma	1 L	57,70	1 L	57,70
Acetone-d <sub>6</sub> , Sigma 99,9%	50 ml	171,0	5 ml	17,1
Clorofórmio-d <sub>1</sub> , Sigma 99,8%	50 g	26,30	14,9 g	7,84
Dimetil sulfóxido-d <sub>1</sub> , Sigma 99,9%	50 g	157,0	5,5 g	17,27
Metanol-d <sub>4</sub> , Sigma 99,8%	5 g	77,60	3,95 g	41,16
<b>Reagentes</b>				
Óxido de cobre(I)	5 g	46,0	2 g	18,4
Tricloreto de Ruténio hidratado, Sigma	5 g	242,0	4 g	193,6
Ciclopentadienilo (dímero)	1 kg	61,50	8 g	0,5
Triflato de prata	1 g	27,40	2,6 g	71,24
2,3-bi(2-piridil)pirazina, Sigma	1 g	126,0	3 g	378
2-2'-bipiridina-4-4'-ácido dicarboxílico, Sigma	1 g	62,20	1,5 g	93,3
N-hidroxisuccinimida, Sigma	5 g	20,60	0,726 g	3
EDC	1 g	27,60	1,4 g	38,64
Trifenilfosfina, Sigma	100 g	33,20	24 g	7,97
Difenilfosfina-benzeno-3-sulfonada, Sigma	250 mg	109,00	2,2 g	959,2
Bis(difenilfosfina)etano, Sigma	1 g	40,90	0,6 g	24,54
<b>Análises</b>				
RMN	1	5	72 h	360
Análises elementares	1	12	9	108
<b>Total</b>			<b>3012,92</b>	

O valor do material corrente de laboratório (gobelés, pipetas, schenks, entre outros), bem como os gastos relativos à luz e água não foram contabilizados no custo total.

## **6.2- Regras de segurança**

No decorrer deste trabalho foram respeitadas todas as regras de segurança do laboratório, nomeadamente, a utilização de óculos de protecção, bata e quando necessário luvas.

Consoante a perigosidade e toxicidade dos solventes e reagentes, os mesmos, foram manuseados com precaução e sempre que necessários dentro de uma hotte.

As fichas de segurança dos solventes e reagentes utilizados que apresentam as declarações de precaução e de perigo, pictogramas, palavra sinal e cuidados a ter no manuseamento encontram-se nos anexos V.

## **6.3- Cuidados ambientais**

Na realização do presente trabalho foram produzidos e manuseados vários resíduos químicos perigosos para o meio ambiente, como tal, todos os resíduos obtidos foram devidamente separados em três categorias, solventes halogenados, solventes não halogenados e metais. Os resíduos sólidos tóxicos foram colocados num contentor de cor vermelha, de acordo com as directrizes da instituição responsável pelo tratamento dos resíduos.

Após a separação dos resíduos estes são recolhidos e tratados por uma empresa responsável, SUCH, que fica encarregada de tratar devidamente dos mesmos.



---

# Capítulo 7

---

*Conclusões e perspectivas futuras*

## 7 - Conclusão e perspectivas futuras

Este projecto de mestrado em Química Tecnológica foi realizado na Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa e na empresa Iberfar, Indústria Farmacêutica S.A.

A parte do trabalho realizado na Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa teve como objectivo a síntese e caracterização de novos complexos binucleares de ruténio(II) e cobre(I) para potencial aplicação como agentes anticancerígenos.

No presente trabalho foram sintetizados cinco novos complexos inorgânicos de cobre(I) (dois mononucleares e três binucleares), três complexos binucleares organometálicos de ruténio(II)-cobre(I) e um complexo binuclear organometálico de ruténio(II). Todos os complexos foram caracterizados por ressonância magnética nuclear ( $^1\text{H}$ -RMN,  $^{31}\text{P}$ -RMN,  $^{13}\text{C}$ -RMN, cosy, HMBC e HSQC), espectroscopia de infravermelho, espectroscopia de ultravioleta-visível e por análises elementares. A presença de isómeros no complexo  $[\text{Cu}(\text{dppe})(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (8), foi verificada pela análise de RMN a baixas temperaturas (10°C a -40°C), onde se observou um maior número de picos que o esperado e comprovada por estudos computacionais de teoria do funcional da densidade (cálculos DFT) que confirmou que a presença de isómeros era energeticamente favorável.

As propriedades citotóxicas dos complexos sintetizados foram avaliadas, por ensaios colorimétricos MTT, nas linhas celulares cancerígenas humanas MDA-MB-231, MCF7, A2780, A2780cisR e numa linha celular não tumoral humana HEK292. Dos complexos avaliados na linha celular MDA-MB-231 dois,  $[(\text{PPh}_3)_2\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2][\text{BF}_4]_2$  (3) e  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (7) (2,3-bis(2-piridil)pirazina (dpp)), apresentaram resultados de  $\text{IC}_{50}$  na ordem dos micromolar. Na mesma linha celular verificou-se que os complexos binucleares que têm na sua estrutura apenas o cobre como centro metálico coordenado ao fosfano *m*TPPMSNa não apresentam atividade citotóxica. O complexo que apresentou um menor valor de  $\text{IC}_{50}$  nesta linha foi o  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (7), a actividade deste complexo poderá estar associada ao ruténio, uma vez que os complexos de cobre coordenados ao fosfano *m*TPPMSNa não são activos na mesma linha celular. Para perceber se o centro activo é de facto o precursor de ruténio, deverão ser analisadas as propriedades citotóxicas do mesmo na mesma linha celular estudada.

O complexo  $[\text{Cu}(\text{dppe})(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (8) e os seus precursores foram avaliados em três linhas celulares cancerígenas, apresentando valores de  $\text{IC}_{50}$  na ordem dos micromolar nas linhas cancerígenas da mama (MCF7) e do ovário (A2780 e A2780cisR), estes resultados são bastante promissores sendo que os valores obtidos são muito inferiores aos obtidos para o metalofármaco em uso clínico, a cisplatina, nas mesmas condições experimentais. Observou-se que o complexo 8 é mais activo na linha celular A2780cisR do que na A2780 o que poderá indicar que este tipo de complexos poderá ultrapassar os problemas associados à resistência da cisplatina. Uma das possíveis vantagens na utilização de complexos bimetálicos é a obtenção de um complexo que pode apresentar uma citotoxicidade inferior aos complexos mononucleares, uma vez que apresenta dois metais na mesma estrutura, pelos resultados obtidos para os três complexos verifica-se que os valores de  $\text{IC}_{50}$  obtidos foram semelhantes, contrariando a ideia inicialmente proposta. O mesmo complexo foi avaliado numa linha celular não tumoral humana embrionária do rim (HEK292), os valores de  $\text{IC}_{50}$  obtidos para esta foram da mesma ordem de grandeza que os observados nas linhas celulares cancerígenas, o que indica que estes complexos não são selectivos para as células tumorais. Para se entender melhor as potencialidades dos complexos binucleares, devem efectuar-se estudos de distribuição celular de modo a verificar a localização e a percentagem do complexo no interior da célula, a partir desta informação deverão ser estudados os potenciais alvos e de modo a tentar delinear os seus modos de acção. Estes estudos vão ser importantes para perceber se os complexos binucleares trazem vantagens em relação aos complexos mononucleares.

A produção de espécies de oxigénio reactivas (ROS) foi efectuada pela realização do ensaio NBT em paralelo com o ensaio MTT. Uma vez que não se conseguiu obter correlacção entre os valores obtidos pelos dois ensaios, provavelmente a produção de ROS não é o mecanismo de acção destes complexos, sendo que o mesmo continua a ser uma incógnita.

No sentido de completar o trabalho laboratorial realizado neste projecto, deverão ser feitos espectros de RMN a baixa temperatura para os complexos cuja atribuição inequívoca dos picos não foi possível realizar. A nível biológico deverão avaliar-se os complexos binucleares e os seus precursores nas mesmas linhas celulares, de modo a entender se os complexos binucleares apresentam valores de  $IC_{50}$  inferiores aos seus precursores. Também se devem realizar estudos de distribuição celular no sentido de perceber os modos de acção destes complexos. Se após os estudos, referidos anteriormente, existirem efectivamente vantagens no uso de complexos binucleares, deverão de ser desenvolvidos novos complexos bimetálicos que visem contornar a falta de selectividade observada. Uma alternativa poderá ser a síntese de complexos bimetálicos, utilizando como precursores complexos monometálicos que apresentem selectividade.

Grande parte do trabalho não conduziu aos resultados pretendidos, em algumas das sínteses realizadas não se obteve o composto desejado. Para ultrapassar os problemas obtidos devem-se procurar na literatura novas abordagens de síntese, que possam ser úteis na obtenção dos complexos pretendidos, bem como novas alternativas que superem as dificuldades obtidas na purificação dos complexos, como a utilização de diferentes solventes nas lavagens e recristalizações.

No estágio realizado na Iberfar, Indústria Farmacêutica S.A., foi possível acompanhar todas as etapas do processo industrial de um fármaco, desde a chegada das matérias-primas ao embalamento do produto final, pronto a ser comercializado.

Foi possível constatar que os dois estágios encontram-se em fases bastante distintas. Enquanto na primeira o potencial fármaco a ser desenvolvido tem de passar por um longo e complicado processo onde é sujeito a vários estudos como a reprodutibilidade da síntese, estudos de estabilidade, citotoxicidade e estudos para identificar o seu modo de acção, no processo industrial esses testes já foram realizados sendo já conhecidos os modos de acção e as dosagens necessárias para um determinado fármaco actuar.

O aparecimento de novos fármacos no mercado pode possibilitar que os tratamentos existentes se tornem mais eficazes. Este trabalho de mestrado procurou ir ao encontro desta perspectiva, permitindo contactar com diferentes etapas na obtenção de um fármaco, a investigação e o processo industrial.

Perante isto pode-se concluir que o objectivo do trabalho foi cumprido.

---

# Capítulo 8

---

*Descrição experimental*

## 8- Descrição experimental

### 8.1- Materiais e técnicas de caracterização

#### 8.1.1- Considerações gerais

Este capítulo pretende descrever as sínteses, as técnicas e os estudos realizados no presente trabalho. Todas as sínteses dos complexos organometálicos e inorgânicos foram realizadas usando técnicas de *Schlenk*, sob atmosfera inerte de azoto, de acordo com as técnicas de manipulação habituais neste tipo de trabalho [49].

#### 8.1.2- Solventes

Os solventes utilizados nas sínteses e recristalizações foram secos e destilados sob atmosfera inerte de azoto, de acordo com métodos publicados na literatura [50]. Os solventes usados nas lavagens e estudos de UV-vis foram usados sem purificação ou secagem, salvo especificação em contrário.

**Tabela 8.1-** Processo de secagem do diclorometano e do n-hexano.

Solventes	Ponto de ebulição (°C)	Pré-secagem	Refluxo-destilação
Diclorometano	40,0	CaCl <sub>2</sub>	CaH <sub>2</sub>
n-Hexano	68,7	Fio de sódio	CaH <sub>2</sub>

#### 8.1.3- Métodos de caracterização e purificação

##### 8.1.3.1- Espectroscopia de infravermelho (FT-IR)

Os espectros de infravermelho (FT-IR) dos compostos foram obtidos num espectrofotómetro *Shimadzu IRAffinity-1* com pastilhas de KBR, preparadas ao ar, sem qualquer calibração extra.

##### 8.1.3.2- Espectroscopia de Ultravioleta-Visível (UV-vis)

Os espectros electrónicos dos compostos foram realizados ao ar, em células de quartzo, usando diclorometano como solvente, num espectrofotómetro Jasco V-660 de feixe duplo com soluções de concentração entre  $10^{-3}$  a  $10^{-5}$  mol/L.

### 8.1.3.3- Espectroscopia de Ressonância magnética nuclear (RMN)

Os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) foram obtidos num espectrofotómetro *Bucker Avance* de 400 MHz, à temperatura ambiente excepto quando especificado em contrário. Os solventes deuterados acetona- $d_6$  (99,9%), clorofórmio- $d$ , (99,8%), metanol- $d_4$  (99,8%), acetonitrilo- $d_3$  (99,8%) e dimetilsulfóxido- $d$  (99,9%) foram usados sem qualquer tipo de purificação. Os desvios químicos dos espectros obtidos são dados em partes por milhão (ppm), usando como padrão interno o TMS.

### 8.1.3.4- Análise elementar C, H, N e S

As determinações das percentagens de C, H, N e S dos complexos foram realizadas no Laboratório de Análises do Instituto Superior Técnico, num equipamento *Fisons Instruments* modelo EA1108.

### 8.1.3.5- Voltametria Cíclica

As determinações electroquímicas foram realizadas num potencióstato/galvanostato EG&G Princeton Applied Research 273A equipado com o software Electrochemical PowerSuite v2.51 da Princeton Applied Research.

Os voltamogramas cíclicos foram obtidos a partir de soluções de 0,1M e 0,2 M de electrólito suporte n-Bu<sub>4</sub>NPF<sub>6</sub> em acetonitrilo e diclorometano, respectivamente, usando uma configuração de três eléctrodos. Como eléctrodo de trabalho foi usado um eléctrodo de disco de platina (1,0 nm de diâmetro); como referência foi usado um pseudo-eléctrodo de prata conectado à solução por um capilar de Luggin; como eléctrodo auxiliar (contra-eléctrodo) foi usado um fio de platina. Os potenciais redox dos complexos foram medidos na presença de ferroceno como padrão interno sendo os seus valores relacionados com o Eléctrodo Saturado de Calomelanos (SCE) usando o potencial do par redox ferrocíneo/ferroceno ( $E_{p/2}$  0,46 e 0,40 V vs SCE para CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e CH<sub>3</sub>CN, respectivamente) [51]. O eléctrodo de suporte foi adquirido comercialmente, recristalizado em etanol, lavado com éter dietílico e seco sob vácuo a 110°C por 24 horas. Estas experiências foram realizadas sob atmosfera de N<sub>2</sub> à temperatura ambiente, os solventes acetonitrilo e diclorometano foram secos e destilados.

Estes estudos foram realizados no Instituto Superior Técnico, no grupo da professora Doutora Paula Robalo.

### 8.1.3.6- Teoria do funcional da densidade (DFT)

Os cálculos DFT foram realizados na Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, pelo Doutor Paulo Costa.

Todos os cálculos foram realizados usando o Gaussian09 [52] com o funcional PBE1PBE (PBE0) [53]. As geometrias foram optimizadas sem restrições de simetria usando o conjunto de base LanL2TZ com uma função de polarização-f com potencial de núcleo efectivo (ECP) associada para o ruténio e cobre [54]. Para o fósforo, foi usada uma função LANL08 com o ECP [54] associado, enquanto para o carbono, o nitrogénio e o hidrogénio foi utilizado um conjunto padrão 6-31G\* [55]. Os efeitos de solvente (acetona) foram incluídos nos cálculos por um Modelo Contínuo Polarizável (PCM), onde se utilizou a equação integral de formalismo variante (IEFPCM) com termos não

electrostáticos a partir do modelo de solvatação baseado na densidade (SMD). Os cálculos de frequência foram realizados para observar a natureza dos pontos estacionários e todas as estruturas corresponderam com um mínimo aceite [56].

## 8.2- Descrição das sínteses dos complexos e dos compostos de partida

Os ligandos orgânicos, bem como os sais utilizados para a introdução de contra-íões, foram adquiridos comercialmente, e utilizados sem purificação prévia.

### 8.2.1 Síntese dos precursores

#### Síntese do $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}]$

A síntese deste precursor foi realizada de acordo com o procedimento descrito por Bruce *et. al* [43].

A uma solução de  $\text{RuCl}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$  (8 mmol; 2,0 g) em etanol, foi adicionado o trifenilfosfano (44 mmol; 11,6 g) seguida da adição de 12 ml de ciclopentadienilo recém-destilado. A mistura reacional foi refluxada durante 5 horas, sob agitação vigorosa, tendo-se observado uma alteração da coloração de castanho para laranja. Em seguida filtrou-se a solução e o produto cristalino formado foi lavado com água (2x15 ml), uma mistura 1:1 de etanol/éter de petróleo (2x15 ml) e etanol frio (2x15 ml), e seco sob vácuo originando o complexo  $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}]$  puro.

**Rendimento** = 94%

$^1\text{H}$  RMN [ $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta/\text{ppm}$  (multiplicidade, integração, atribuição)]: 7,35 [m, 12, *o*- $\text{PPh}_3$ ]; 7,22 [m, 6, *p*- $\text{PPh}_3$ ]; 7,12 [m, 12, *m*- $\text{PPh}_3$ ]; 4,12 [s, 5, Cp]

$^{31}\text{P}$  RMN [ $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta/\text{ppm}$ ]: 38,9 [s,  $\text{PPh}_3$ ]

#### Síntese do $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)(\text{dpp})][\text{CF}_3\text{SO}_3]$

A síntese deste precursor foi realizada de acordo com o procedimento descrito por Tânia S. Morais [36].

A uma solução do complexo  $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}]$  (0,5 mmol; 0,37 g) em diclorometano foi adicionado triflato de prata (0,5 mmol; 0,13 g). A mistura foi deixada a agitar à temperatura ambiente durante uma hora. De seguida adicionou-se o ligando 2,3-bi(2-piridil)pirazina (0,5 mmol; 0,12 g). A mistura reacional foi refluxada durante aproximadamente 6 horas, observando-se uma alteração de cor de laranja para vermelho. Em seguida filtrou-se a solução, evaporou-se o solvente e lavou-se o produto vermelho com *n*-hexano (2 x 20 ml). O produto foi recristalizado por difusão lenta de diclorometano/éter dietílico.

**Rendimento** = 77%

$^1\text{H}$  RMN [ $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ,  $\delta/\text{ppm}$  (multiplicidade, integração, atribuição)]: 9,64 [d, 1, H5 (dpp)]; 9,41 [d, 1, H1 (dpp)]; 8,80 [d, 1, H10 (dpp)]; 8,64 [d, 1, H2 (dpp)]; 8,41 [d, H8 (dpp)]; 8,17 [t, 1, H7 (dpp)]; 7,76 [t, 1, H9 (dpp)]; 7,68 [t, 1, H3 (dpp)]; 7,44 [m, 6, *o*- $\text{PPh}_3$ ]; 7,36 [m, 3, *p*- $\text{PPh}_3$ ]; 6,97 [m, 6, *m*- $\text{PPh}_3$ ]; 7,20 [t, 1, H4 (dpp)]; 6,41 [d, 1, H2 (dpp)]; 5,76 [s, 5, Cp]

$^{31}\text{P}$  RMN [ $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ,  $\delta/\text{ppm}$ ]: 49,26 [s,  $\text{PPh}_3$ ]

## Síntese do $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)(\text{dcbpy})][\text{CF}_3\text{SO}_3]$

A síntese deste precursor foi realizada de acordo com o procedimento descrito por Tânia S. Morais [57].

A uma solução do complexo  $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}]$  (0,5 mmol; 0,37 g) em metanol, foi adicionado o triflato de prata (0,5 mmol; 0,13 g). A mistura foi deixada a agitar à temperatura ambiente durante uma hora. Em seguida adicionou-se o ligando 2-2'-bipiridil-4-4'-ácido dicarboxílico (0,5 mmol; 0,13g). A mistura reacional foi refluxada durante 6 horas observando-se uma alteração de cor de laranja para vermelho. Em seguida filtrou-se a solução, evaporou-se o solvente e lavou-se o produto com n-hexano (2 x. 20 ml). Este produto foi recristalizado por difusão lenta de diclorometano/n-hexano.

**Rendimento** = 84%

$^1\text{H}$  RMN  $[\text{CD}_3\text{OD}, \delta/\text{ppm}$  (multiplicidade, integração, atribuição)]: 9,58 [s, 2, H4 (dcbpy)]; 8,51 [d, 2, H1 (dcbpy)]; 7,76 [d, 2, H2 (dcbpy)]; 7,35 [m, 3, *p*-PPh<sub>3</sub>]; 7,22 [m, 6, *o*-PPh<sub>3</sub>]; 7,12 [m, 6, *m*-PPh<sub>3</sub>]; 4,93 [s, 5, Cp]

$^{31}\text{P}$  RMN  $[\text{CD}_3\text{OD}, \delta/\text{ppm}]$ : 49,89 [s, PPh<sub>3</sub>]

## Síntese do $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4][\text{BF}_4]$

A síntese deste precursor foi realizada de acordo com o procedimento descrito por Duward F. Shriver [39].

Dissolveu-se o composto Cu<sub>2</sub>O (14 mmol; 2,0 g) em aproximadamente 100 ml de acetonitrilo, seguido da adição de 17,3 ml (57 mmol) de HBF<sub>4</sub>. A mistura reacional foi deixada a agitar até todo o complexo de cobre estar completamente dissolvido.

Em seguida filtrou-se a solução que foi deixada no frigorífico, durante a noite, dando origem a um produto branco que foi lavado com éter e seco sob vácuo.

$^1\text{H}$  RMN  $[\text{CD}_3\text{CN}, \delta/\text{ppm}$  (multiplicidade, integração, atribuição)]: 1,96 [s, 12, CH<sub>3</sub> (CH<sub>3</sub>CN)].

## Síntese do $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$

A síntese deste precursor foi realizada de acordo com o procedimento descrito por Yann Jousseau [58].

A uma solução do complexo  $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4][\text{BF}_4]$  (1,5 mmol; 0,48 g) em aproximadamente 30 ml de acetonitrilo, foi adicionado o trifenilfosfano (3 mmol; 0,79 g). A mistura reacional foi deixada a agitar durante a noite, à temperatura ambiente. Seguidamente evaporou-se o solvente e o produto branco formado foi lavado com éter dietílico.

**Rendimento** = 86,7%

$^1\text{H}$  RMN  $[\text{CDCl}_3, \delta/\text{ppm}$  (multiplicidade, integração, atribuição)]: 7,44 [m, 6, *p*-PPh<sub>3</sub>]; 7,34 [m, 12, *o*-PPh<sub>3</sub>]; 7,26 [m, 12, *m*-PPh<sub>3</sub>]; 1,96 [s, 6, CH<sub>3</sub> (CH<sub>3</sub>CN)]

$^{31}\text{P}$  RMN  $[\text{CDCl}_3, \delta/\text{ppm}]$ : -0,78 [s, PPh<sub>3</sub>]



## Síntese do $[\text{Cu}(\text{dppe})(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$

A síntese deste precursor foi realizada de acordo com o procedimento descrito por João Lopes [36].

A uma solução do complexo  $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4][\text{BF}_4]$  (1,5 mmol; 0,48 g) em acetonitrilo foi adicionada, muito lentamente, uma solução do fosfano 1,2-bis(difenilfosfino)etano (dppe) (3 mmol, 0,59 g) em THF através de uma ampola de carga. Após a adição da solução do fosfano, a reação foi deixada a agitar durante a noite, à temperatura ambiente. Em seguida evaporou-se o solvente, tendo-se lavado o produto formado com éter dietílico.

**Rendimento** = 73,3%

**$^1\text{H}$  RMN** [ $\text{CD}_3\text{CN}$ ,  $\delta/\text{ppm}$  (multiplicidade, integração, atribuição)]: 7,56-7,26 [m, 20, dppe]; 2,37 [m, 4,  $\text{CH}_2$  (dppe)]; 1,96 [s, 6,  $\text{CH}_3$  ( $\text{CH}_3\text{CN}$ )]

**$^{31}\text{P}$  RMN** [ $\text{CD}_3\text{CN}$ ,  $\delta/\text{ppm}$ ]: -1,84 [s, dppe]; -7,81 [s, dppe]

## 8.2.2 Síntese dos complexos mononucleares de Cu(I)

### Síntese do $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$ (1)

A uma solução do complexo  $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4][\text{BF}_4]$  (1,5 mmol; 0,47 g) em aproximadamente 30 ml de acetonitrilo, adicionou-se o difenilfosfano-benzeno-3-sulfonato (3 mmol; 1,1 g). A solução passou de incolor para branco, após a adição do fosfano. A mistura reacional foi deixada a agitar durante a noite, à temperatura ambiente. Após 20 horas de agitação, a solução foi evaporada, e o produto branco formado foi lavado com éter dietílico e seco sob vácuo.

**Rendimento** = 88,7%

**$^1\text{H}$  RMN** [ $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ,  $\delta/\text{ppm}$  (multiplicidade, integração, atribuição)]: 7,97 [s, 2,  $\text{H}_4$  ( $m\text{TPPMSNa}$ )]; 7,73 [d, 2,  $\text{H}_5$  ( $m\text{TPPMSNa}$ )]; 7,46 [t, 4,  $\text{H}_3$  ( $m\text{TPPMSNa}$ )]; 7,36 [t, 8,  $\text{H}_2$  ( $m\text{TPPMSNa}$ )]; 7,35 [t, 2,  $\text{H}_6$  ( $m\text{TPPMSNa}$ )]; 7,24 [d, 8,  $\text{H}_1$  ( $m\text{TPPMSNa}$ )]; 7,16 [d, 2,  $\text{H}_7$  ( $m\text{TPPMSNa}$ )]; 2,07 [s, 6,  $\text{CH}_3$  ( $\text{CH}_3\text{CN}$ )]

**$^{31}\text{P}$  RMN** [ $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ,  $\delta/\text{ppm}$ ]: -3,82 [s,  $m\text{TPPMSNa}$ ]

**$^{13}\text{C}$  RMN** [ $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ,  $\delta/\text{ppm}$ ]: 148,84 [C1,  $m\text{TPPMSNa}$ ]; 133,27 [C5,  $m\text{TPPMSNa}$ ]; 132,23 [C4,  $m\text{TPPMSNa}$ ]; 130,82 [C10,  $m\text{TPPMSNa}$ ]; 130,27 [C7,  $m\text{TPPMSNa}$ ]; 128,94 [C6,  $m\text{TPPMSNa}$ ]; 128,24 [C3,  $m\text{TPPMSNa}$ ]; 127,59 [C2,  $m\text{TPPMSNa}$ ]; 118,18 [C11,  $\text{CH}_3\text{CN}$ ]; 1,20 [C8,  $\text{CH}_3\text{CN}$ ]

**FT-IR** [KBR,  $\text{cm}^{-1}$ ]: 3047 ( $\nu_{\text{C-H}}$ ,  $m\text{TPPMSNa}$ ); 1600-1450 ( $\nu_{\text{C=C}}$ , grupos fenilo ( $m\text{TPPMSNa}$ )); 1396 ( $\delta_{\text{C-H}}$   $\text{CH}_3\text{CN}$ ); 1250 ( $\nu_{\text{SO}_3^-}$ ,  $m\text{TPPMSNa}$ ); 1000 e 694 ( $\nu_{\text{BF}_4^-}$ ); 790-624 ( $\delta_{\text{C-H}}$ ,  $m\text{TPPMSNa}$ )

**UV-vis** em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ,  $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$  ( $\epsilon/\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ): 266 (20280)

### Síntese do $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\text{dpp})][\text{BF}_4]$ (2)

A uma solução do complexo  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\text{CH}_3\text{CN})][\text{BF}_4]$  (1) (0,5 mmol; 0,49 g) em aproximadamente 30 ml de diclorometano, adicionou-se o ligando 2,3-bis(2-piridil)pirazina (0,5mmol; 0,12 g), observando-se uma alteração de cor de branco para vermelho. A mistura reacional foi deixada a agitar durante a noite, à temperatura ambiente. Após cerca de 19 horas de agitação, filtrou-se a

solução, evaporou-se o solvente e o produto laranja obtido foi recristalizado por difusão lenta de diclorometano/éter dietílico.

**Rendimento** = 71,6 %

**<sup>1</sup>H RMN** [(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO, δ/ppm (atribuição)]: 9,27-8,06 [dpp]; 7,81-6,89 [*m*TPPMSNa + dpp]

**<sup>31</sup>P RMN** [(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO, δ/ppm]: 2,84 [s, *m*TPPMSNa]

**FT-IR** [KBR, cm<sup>-1</sup>]: 3053-2864 (ν<sub>C-H</sub>, *m*TPPMSNa e dpp); 1629,85 (δ<sub>C-N</sub>, dpp); 1587-1435 (ν<sub>C=C</sub>, grupos fenilo (*m*TPPMSNa e dpp)); 1250 (ν<sub>SO<sub>3</sub><sup>-</sup></sub>, *m*TPPMSNa); 788,89-518 (δ<sub>C-H</sub>, *m*TPPMSNa e dpp); 1033 e 694 (ν<sub>BF<sub>4</sub><sup>-</sup></sub>)

**UV-vis** em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, λ<sub>max</sub>/nm (ε /M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>): 409 (1576); 264 (21943)

### 8.2.3 Síntese dos complexos binucleares de Cu(I)-Cu(I)

#### Síntese do [(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cu(μ-dpp)Cu(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>][BF<sub>4</sub>]<sub>2</sub> (3)

A uma solução do complexo [Cu(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>CN)<sub>2</sub>][BF<sub>4</sub>] (1mmol; 0,76 g) em diclorometano foi adicionado o ligando 2,3-bi(2-piridil)pirazina (0,5mmol; 0,12 g). A mistura reacional foi deixada a agitar durante a noite, à temperatura ambiente. Após 20 horas, evaporou-se o solvente e o produto laranja formado foi recristalizado por difusão lenta de diclorometano/éter dietílico.

**Rendimento** = 78%

**<sup>1</sup>H RMN** [CDCl<sub>3</sub>, δ/ppm (multiplicidade, integração, atribuição)]: 8,99 [s, 2, H<sub>5</sub> (dpp)]; 8,61 [d, 2, H<sub>1</sub> (dpp)]; 8,16 [t, 2, H<sub>3</sub> (dpp)]; 7,67 [d, 2, H<sub>4</sub> (dpp)]; 7,63 [t, 2, H<sub>2</sub> (dpp)]; 7,43-7,26 [m, 60, PPh<sub>3</sub>]

**<sup>31</sup>P RMN** [CDCl<sub>3</sub>, δ/ppm]: 3,09 [s, PPh<sub>3</sub>]

**<sup>13</sup>C RMN** [CDCl<sub>3</sub>, δ/ppm]: 150,92 [C1, dpp]; 145,83 [C5, dpp]; 139,12 [C3, dpp]; 133,04-129,24 [C, PPh<sub>3</sub>]; 127,85 [C4, dpp]; 127,39 [C2, dpp];

**FT-IR** [KBR, cm<sup>-1</sup>]: 3055 (ν<sub>C-H</sub>, grupo fenilo (PPh<sub>3</sub> e dpp)); 1593 (δ<sub>C-N</sub>, dpp); 1600-1300 (ν<sub>C=C</sub>, grupos fenilo (PPh<sub>3</sub> e dpp)); 1055 e 694 (ν<sub>BF<sub>4</sub><sup>-</sup></sub>); 785-518 (δ<sub>C-H</sub>; grupos fenilo (PPh<sub>3</sub> e dpp))

**UV-vis** em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, λ<sub>max</sub>/nm (ε /M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>): 428 (2566); 315 (7969); 257 (29702)

#### Síntese do [(*m*TPPMSNa)<sub>2</sub>Cu(μ-dpp)Cu(*m*TPPMSNa)<sub>2</sub>][BF<sub>4</sub>]<sub>2</sub> (4)

**A** - A uma solução de [Cu(*m*TPPMSNa)<sub>2</sub>(dpp)][BF<sub>4</sub>] (0,3 mmol; 0,26 g) em diclorometano foi adicionada lentamente uma solução de [Cu(*m*TPPMSNa)<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>CN)<sub>2</sub>][BF<sub>4</sub>] (0,3 mmol; 0,3 g) também em diclorometano. A mistura reacional foi agitada durante a noite, a temperatura ambiente. Após 20 horas de agitação evaporou-se o solvente e o produto laranja obtido foi recristalizado por difusão lenta de diclorometano/éter dietílico.

**Rendimento** = 51,9%

**<sup>1</sup>H RMN** [(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO, δ/ppm (atribuição)]: 8,73-8,56 [dpp]; 7,85-7,12 [*m*TPPMSNa + dpp]

**<sup>31</sup>P RMN** [(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO, δ/ppm]: 2,51 e -3,63 [s, *m*TPPMSNa]

**B** – Com o objectivo de aumentar o rendimento da síntese, repetiu-se a mesma usando uma abordagem diferente.

A uma solução do [Cu(*m*TPPMSNa)<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>CN)<sub>2</sub>][BF<sub>4</sub>] (0,6 mmol; 0,576 g) em diclorometano foi adicionado o ligando 2,3-bi(2-piridil)pirazina (0,3 mmol; 0,070 g). A mistura reacional foi agitada durante a noite, a temperatura ambiente. Após 20 horas de agitação, evaporou-se o solvente e recristalizou-se o composto laranja formado por difusão lenta de diclorometano/éter dietílico.

**Rendimento** = 69,5%

**<sup>1</sup>H RMN** [(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO, δ/ppm (atribuição)]: 8,73-8,58 [dpp]; 7,85-7,12 [*m*TPPMSNa + dpp]

**<sup>31</sup>P RMN** [(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO, δ/ppm]: 2,51 e -3,63 [s, *m*TPPMSNa]

**FT-IR** [KBR, cm<sup>-1</sup>]: 3051 (ν<sub>C-H</sub>, grupos fenilo (*m*TPPMSNa e dpp)); 1629 (δ<sub>C-N</sub>, dpp); 1600-1300 (ν<sub>C=C</sub>, grupos fenilo (*m*TPPMSNa e dpp); 1224 (ν<sub>SO<sub>3</sub><sup>-</sup></sub>, *m*TPPMSNa); 1033 e 694 (ν<sub>BF<sub>4</sub><sup>-</sup></sub>); 788-619 (δ<sub>C-H</sub>, grupos fenilo (*m*TPPMSNa e dpp))

**UV-vis** em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, λ<sub>max</sub>/nm (ε /M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>): 416 (12806); 282 (96886)

### Síntese do [(dppe)Cu(μ-dpp)Cu(dppe)][BF<sub>4</sub>]<sub>2</sub> (5)

A uma solução do complexo [Cu(dppe)(CH<sub>3</sub>CN)<sub>2</sub>][BF<sub>4</sub>] (0,8 mmol; 0,485 g) em diclorometano foi adicionado o ligando 2,3-bi(2-piridil)pirazina (0,4 mmol; 0,09 g). A mistura reacional foi deixada a agitar durante a noite, a temperatura ambiente. Após 20 horas, evaporou-se o solvente e recristalizou-se o produto vermelho obtido por difusão lenta de diclorometano/éter dietílico.

**Rendimento** = 58,4%

**<sup>1</sup>H RMN** [(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO δ/ppm (multiplicidade, integração, atribuição)]: 9,31 [d, 2, H<sub>5</sub> (dpp)]; 8,25 [d, 2, H<sub>1</sub> (dpp)]; 8,21 [d, 2, H<sub>3</sub> (dpp)]; 8,02 [d, 2, H<sub>4</sub> (dpp)]; 7,26 [s, 2, H<sub>2</sub> (dpp)]; 7,41-7,19 [m, 90, dppe]; 2,60-2,47 [m, 4, CH<sub>2</sub> (dppe)]

**<sup>31</sup>P RMN** [(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO, δ/ppm]: -3,42 [s, dppe]

**FT-IR** [KBR, cm<sup>-1</sup>]: 3053 (ν<sub>C-H</sub>, grupos fenilo (dppe e dpp)); 1593 (δ<sub>C-N</sub>, dpp); 1600-1300 (ν<sub>C=C</sub>, grupos fenilo (dppe e dpp)); 1083 e 694 (ν<sub>BF<sub>4</sub><sup>-</sup></sub>); 516 (δ<sub>C-H</sub>, grupos fenilo (dppe e dpp))

**UV-vis** em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, λ<sub>max</sub>/nm (ε /M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>): 485 (6964); 293 (38964)

## 8.2.4 Síntese dos complexos binucleares de Cu(I)-Ru(II)

### Síntese do [Cu(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(μ-dpp)RuCp(PPh<sub>3</sub>)][CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>][BF<sub>4</sub>] (6)

A uma solução do complexo [RuCp(PPh<sub>3</sub>)(dpp)][CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>] (0,36 mmol; 0,25 g) em acetonitrilo, foi adicionada lentamente uma solução do complexo [Cu(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>CN)<sub>2</sub>][BF<sub>4</sub>] (0,36 mmol; 0,22 g) também em acetonitrilo. A mistura reacional foi deixada a agitar durante a noite, a temperatura ambiente. Após 20 horas, observou-se uma intensificação da cor vermelha. Em seguida evaporou-se o solvente e o produto vermelho formado foi recristalizado por difusão lenta de diclorometano/éter dietílico.

**Rendimento** = 68,6%

**<sup>1</sup>H RMN** [(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO, δ/ppm (multiplicidade, integração, atribuição)]: 9,78 [d, 1, H<sub>5</sub> (dpp)]; 9,46 [d, 1, H<sub>6</sub> (dpp)]; 8,46 [d, 1, H<sub>1</sub> (dpp)]; 8,25 [d, 1, H<sub>10</sub> (dpp)]; 7,98 [d, 1, H<sub>4</sub> (dpp)]; 7,73 [d, 1, H<sub>8</sub> (dpp)]; 7,64 [d, 1, H<sub>9</sub> (dpp)]; 7,26 [d, 1, H<sub>7</sub> (dpp)]; 7,23 [d, 1, H<sub>2</sub> (dpp)]; 7,22 [d, 1, H<sub>3</sub> (dpp)]; 7,26-7,09 [m, 75, PPh<sub>3</sub>]; 4,80 [s, 5, Cp]

**<sup>31</sup>P RMN** [(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO, δ/ppm]: 46,90 [s, PPh<sub>3</sub>]; 2,33 [s, PPh<sub>3</sub>]

**UV-vis** em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, λ<sub>max</sub>/nm (ε /M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>): 421 (10957); 328 (28365); 259 (114148)

### Síntese do [Cu(*m*TPPMSNa)<sub>2</sub>(μ-dpp)RuCp(PPh<sub>3</sub>)][CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>][BF<sub>4</sub>] (7)

A uma solução do complexo [RuCp(PPh<sub>3</sub>)(dpp)][CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>] (0,36 mmol; 0,25 g) em diclorometano foi adicionada lentamente uma solução do complexo [Cu(*m*TPPMSNa)<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>CN)<sub>2</sub>]

[BF<sub>4</sub>] (0,36 mmol; 0,22 g) em diclorometano. A mistura reacional foi deixada a agitar durante a noite, a temperatura ambiente. Após 22 horas de agitação, evaporou-se o solvente e o produto vermelho formado foi recristalizado por difusão lenta de diclorometano/éter dietílico.

**Rendimento** = 55,7%

**<sup>1</sup>H RMN** [(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO, δ/ppm (multiplicidade, integração, atribuição)]: 9,59 [d, 1, H<sub>5</sub> (dpp)]; 9,42 [d, 1, H<sub>1</sub> (dpp)]; 8,70 [d, 1, H<sub>10</sub> (dpp)]; 8,08 [t, 1, H<sub>8</sub> (dpp)]; 7,87 [d, 1, H<sub>9</sub> (dpp)]; 7,71 [d, 1, H<sub>4</sub> (dpp)]; 7,63 [d, 1, H<sub>7</sub> (dpp)]; 7,26 [d, 1, H<sub>3</sub> (dpp)]; 6,99 [t, 1, H<sub>2</sub> (dpp)]; 7,7-7,2 [m, 68, *m*TPPMSNa + PPh<sub>3</sub>]; 4,98 [s, 5, Cp]

**<sup>31</sup>P RMN** [(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO, δ/ppm]: 48,57 [s, PPh<sub>3</sub>]; -2,57 [s, *m*TPPMSNa]

**<sup>13</sup>C RMN** [(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO, δ/ppm]: 156,45 [C1, dpp]; 153,02 [C2, dpp]; 149,91 [C10, dpp]; 148,88 [C5, dpp]; 138,40 [C8, dpp]; 135,13 [C3, dpp]; 133,23-128,73 [C, PPh<sub>3</sub> + *m*TPPMSNa]; 131,82 [C7, dpp]; 127,66 [C4, dpp]; 125,11 [C9, dpp]; 80,06 [C11, Cp]

**FT-IR** [KBR, cm<sup>-1</sup>]: 3053-2866 (ν<sub>C-H</sub>, grupos fenilo (*m*TPPMSNa e dpp)); 1550-1435 (ν<sub>C=C</sub>, grupos fenilo (*m*TPPMSNa e dpp)); 1261 (ν<sub>SO<sub>3</sub>-</sub>, CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub><sup>-</sup>) 1029 e 694 (ν<sub>BF<sub>4</sub>-</sub>); 786-617 (δ<sub>C-H</sub>, grupos fenilo (*m*TPPMSNa e dpp))

**UV-vis** em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, λ<sub>max</sub>/nm (ε /M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>): 504 (3910); 444 (7387); 308 (28533); 277 (46695)

## Síntese do [Cu(dppe)(μ-dpp)RuCp(PPh<sub>3</sub>)] [CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>] [BF<sub>4</sub>] (8)

A uma solução do complexo [RuCp(PPh<sub>3</sub>)(dpp)] [CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>] (0,36 mmol; 0,25 g) em acetonitrilo foi adicionada lentamente uma solução do complexo [Cu(dppe)(CH<sub>3</sub>CN)<sub>2</sub>] [BF<sub>4</sub>] (0,36 mmol; 0,22 g) em acetonitrilo. A mistura reacional foi deixada a agitar durante a noite. Após 22 horas, observou-se uma alteração da cor de vermelho para castanho. Após filtração, evaporou-se o solvente e o produto obtido foi recristalizado por difusão lenta de diclorometano/éter dietílico.

**Rendimento** = 51,67%

**<sup>1</sup>H RMN** [(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, δ/ppm (multiplicidade, integração, atribuição)]: 10,06 [d, 1, H<sub>5</sub> (dpp)]; 9,74 [d, 1, H<sub>1</sub> (dpp)]; 8,85 [d, 1, H<sub>10</sub> (dpp)]; 8,58 [d, 1, H<sub>6</sub> (dpp)]; 8,49 [t, 1, H<sub>9</sub> (dpp)]; 8,19 [d, 1, H<sub>7</sub> (dpp)]; 7,85 [t, 1, H<sub>8</sub> (dpp)]; 7,69 [t, 1, H<sub>2</sub> (dpp)]; 7,6-7,18 [m, 138,13, PPh<sub>3</sub> + dppe]; 7,00 [t, 1, H<sub>4</sub> (dpp)]; 5,15 e 5,00 [s, 5, Cp]

**<sup>31</sup>P RMN** [(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, δ/ppm]: 48,32 [s, PPh<sub>3</sub>]; -3,61 [s, dppe]

**FT-IR** [KBR, cm<sup>-1</sup>]: 3057 (ν<sub>C-H</sub>, Cp); 2974-2835 (ν<sub>C-H</sub> e δ<sub>C-H</sub>, grupos fenilo (dppe e dpp)); 1635 (δ<sub>C-N</sub>, dpp); 1479-1411 (ν<sub>C=C</sub>, grupos fenilo (dppe e dpp)); 1263 (ν<sub>SO<sub>3</sub>-</sub>, CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub><sup>-</sup>); 1029 e 698 (ν<sub>BF<sub>4</sub>-</sub>); 636-526 (δ<sub>C-H</sub>, grupos fenilo (dppe e dpp))

**UV-vis** em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, λ<sub>max</sub>/nm (ε/M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>): 474 (5504); 274 (28376)

## 8.2.5 Síntese do complexo Binuclear de Ru(II)-Ru(II)

### Síntese do [(PPh<sub>3</sub>)CpRu(μ-dpp)RuCp(PPh<sub>3</sub>)] [CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>]<sub>2</sub> (9)

A uma solução do complexo [RuCp(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl] (1 mmol; 0,722 g) em diclorometano foi adicionado triflato de prata (1mmol; 0,26 g). A mistura foi deixada a agitar a temperatura ambiente durante uma hora. Em seguida adicionou-se o ligando 2,3-bi(2-piridil)pirazina (0,5 mmol; 0,118 g). A mistura reacional foi refluxada durante 4 horas, observando-se uma alteração da cor de laranja para vermelho. Filtrou-se a solução, evaporou-se o solvente e o produto foi recristalizado por difusão lenta de diclorometano/n-hexano, tendo-se obtido um produto vermelho.

**<sup>1</sup>H RMN** [(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, δ/ppm (multiplicidade, integração, atribuição)]: 9,82-7,57 [m, 20, dpp]; 7,52-7,00 [m, 75, PPh<sub>3</sub>]

**<sup>31</sup>P RMN** [(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, δ/ppm]: 49,25 [PPh<sub>3</sub>]; 48,93 [PPh<sub>3</sub>]; 48,47 [PPh<sub>3</sub>]; 46,20 [PPh<sub>3</sub>]

## 8.2.6 Sínteses não conclusivas

### Reacção A: [Cu(*m*TPPMSNa)<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>CN)<sub>2</sub>] + 1,1'-Carbonildiimidazole

**Reacção A1:** A uma solução de [Cu(*m*TPPMSNa)<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>CN)<sub>2</sub>][BF<sub>4</sub>] (0,5 mmol; 0,48 g) em diclorometano foi adicionado o 1,1'-carbonildiimidazole (1 mmol; 0,16 g). A mistura reacional foi deixada a agitar durante a noite. Após 20 horas de agitação, filtrou-se a solução e lavou-se o precipitado branco que se formou com éter dietílico. No entanto pela análise do espectro de <sup>1</sup>H RMN verificou-se que o produto obtido não era o pretendido, uma vez que não se observaram os picos correspondentes ao ligando, só se observaram os picos correspondentes do fosfano. Não se conseguiu ter a certeza de qual foi o produto obtido.

**Reacção A2:** A uma solução de 1,1'-carbonildiimidazole em diclorometano foi adicionada muito lentamente uma solução de [Cu(*m*TPPMSNa)<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>CN)<sub>2</sub>][BF<sub>4</sub>] em diclorometano. Após a formação de um precipitado branco, filtrou-se a solução e secou-se o composto obtido. Porém pela análise do espectro de <sup>1</sup>H RMN observou-se que o produto obtido não foi o pretendido, uma vez que não se observaram os picos correspondentes ao ligando, só se verificaram os picos do trifenilfosfano sulfonado, só se observaram os picos correspondentes do fosfano. Não se conseguiu ter a certeza de qual foi o produto obtido.

### Reacção B: [RuCp(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl] + 1,1'-Carbonildiimidazole

A uma solução do complexo [RuCp(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl] (1 mmol; 0,729 g) em diclorometano foi adicionado triflato de prata (1 mmol; 0,26 g). A mistura foi deixada a agitar, a temperatura ambiente durante uma hora. Em seguida adicionou-se 1,1'-carbonildiimidazole (0,5 mmol; 0,081 g). A mistura reacional foi deixada a agitar durante a noite. Por cromatografia em camada fina (TLC) verificou-se que a ainda existia composto de partida por reagir, colocou-se a mistura reacional a refluxar durante 6 horas. Em seguida filtrou-se a solução, evaporou-se o solvente e recristalizou-se o precipitado amarelo-esverdeado obtido, por difusão lenta em diclorometano/n-hexano e em diclorometano/éter dietílico, tendo-se obtido cristais esverdeados. O composto obtido foi o [RuCp(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Im][CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>] (onde Im = imidazole), no entanto este não era o composto pretendido.

**<sup>1</sup>H RMN** [CDCl<sub>3</sub>, δ/ppm (multiplicidade, integração, atribuição)]: 7,50 [s, 1, Im]; 7,36 [m, 6, *p*-PPh<sub>3</sub>]; 7,23 [m, 12, *o*-PPh<sub>3</sub>]; 7,00 [m, 12, *m*-PPh<sub>3</sub>]; 6,84 [d, 1, Im]; 6,61 [d, 1, Im]; 4,30 [s, 5, Cp]

**<sup>31</sup>P RMN** [CDCl<sub>3</sub>, δ/ppm]: 41,53 [s, PPh<sub>3</sub>]

### Reacção C: [RuCp(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(dcbpy)][CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>] + N-hidroxisucinimida + N-(3-dimethylaminopropil)-N'-etilcarbodiimida hidrocloreto

**Reacção C1:** Uma solução do complexo [RuCp(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(dcbpy)][CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>] em 4,2 ml de DMF, foi arrefecida num banho de gelo, a aproximadamente 2°C. A esta solução foi adicionada a N-hidroxisucinimida e o N-(3-dimethylaminopropil)-N'-etilcarbodiimida hidrocloreto. Agitou-se a

mistura reacional durante 5 minutos num banho de gelo, em seguida deixou-se a mesma a agitar durante a noite à temperatura ambiente, evaporou-se o solvente dando origem a um óleo preto.

O composto obtido foi colocado numa coluna cromatográfica, escolheu-se como eluente uma mistura de acetato de etilo:hexano (3:1).

**Reacção C2:** Repetiu-se a síntese descrita em C1 diversas vezes. Os compostos obtidos foram colocados em colunas cromatográficas, tentou-se purificar os mesmos com diferentes eluentes, além do acetato de etilo:hexano (3:1), utilizou-se também, diclorometano:metanol em diferentes porções.

**Reacção C3:** Repetiu-se a síntese descrita em C1, no entanto utilizou-se diferentes métodos de purificação, em vez do uso da coluna cromatográfica, recristalizou-se, o óleo obtido por difusão lenta em diclorometano:hexano, diclorometano:éter dietílico e metanol:éter dietílico. Obteve-se o composto pretendido, no entanto não se conseguiu separar das impurezas.

**Reacção C3:** A uma solução do produto obtido na reacção C1(óleo preto sem ser recristalizado) (0,1575 g) em 0,7 ml de DMF, foi adicionado 12,2 µL de 1-(3-Aminopropil)imidazole. A mistura reacional foi deixada a agitar durante a noite. Em seguida, evaporou-se o solvente e recristalizou-se por difusão lenta o óleo obtido de metanol/éter dietílico, tendo-se obtido um óleo. Filtrou-se a solução e o óleo obtido foi lavado com n-hexano e THF. Obteve-se o composto pretendido, tendo este impurezas que não se conseguiram retirar.

Tentaram-se várias alternativas para obter o composto pretendido, no entanto, embora este fosse obtido, nunca se conseguiu uma purificação eficiente.

### 8.3- Ensaios biológicos

Estes estudos foram realizados no Centro de Ciências e Tecnologias Nucleares (C<sub>2</sub>TN) do Instituto Superior Técnico (IST) pela Doutora Fernanda Marques.

As linhas celulares humanas A2780 e A2780cisR (Sigma-Aldrich), MCF7 e HEK (ATCC) e MDA-MB-231 (ATCC) foram cultivadas em DMEM + GlutaMAX<sup>TM</sup> suplementadas com 10% FBS numa atmosfera umidificada com 95% de ar/5% CO<sub>2</sub> onde foram utilizados os métodos padrões de cultura celular. As células foram colocadas em placas de 96 poços (10-20x10<sup>3</sup> células/poços) 24 horas antes do tratamento para permitir a aderência.

#### 8.3.1- Ensaio MTT

Após o tratamento com os compostos a serem estudados, o meio celular foi substituído por 200 µL (0,5 mg/ml) de uma solução MTT em PBS (MTT = brometo de 3-(4,5-Dimetil-2-tiazoli)-2,5difetil tetrazólio) e incubados por 3h a 37°C. O formazan, resultante da redução do tetrazólio, foi solubilizado em DMSO e medida a absorvância a 575 nm. Cada experiência foi repetida pelo menos duas vezes e cada concentração foi testada com pelo menos seis réplicas. Os resultados são expressos em % de viabilidade celular relativa ao controlo (células sem tratamento). Os valores de IC<sub>50</sub> foram calculados a partir de curvas de concentração-resposta utilizando o software *Graphpad Prims* (vs. 4.0).

#### 8.3.2- Ensaio NBT

A produção de ROS foi detectada por um ensaio de nitroazul de tetrazólio, pelos procedimentos descritos [59,60]. Durante o tratamento dos compostos por 2h a 37°C, 20 µL foi adicionado ao meio das células tratadas, 10 mg/ml de uma solução NBT (NBT = 2,2'-bis(4-Nitrofenil)-5,5'-difetil-3,3'-(3,3'- dimetoxi-4,4'-difenileno)cloreto de ditetrazólio) em água sendo

que a incubação durou 1h a 37°C. A solução NBT foi cuidadosamente descartada e os depósitos de formazan foram solubilizados com 200 µL de 90% DMSO: 10% 0,01M NaOH e 0,1% SDS. Após cuidadosa homogeneização dos conteúdos dos poços foi medida a absorvância a 550 nm. Cada experiência foi repetida duas vezes e cada concentração foi testada com pelo menos seis réplicas. Os resultados são expressos como % dos controlos (sem tratamento).

---

# Capítulo 9

---

*Bibliografía*



## Bibliografia

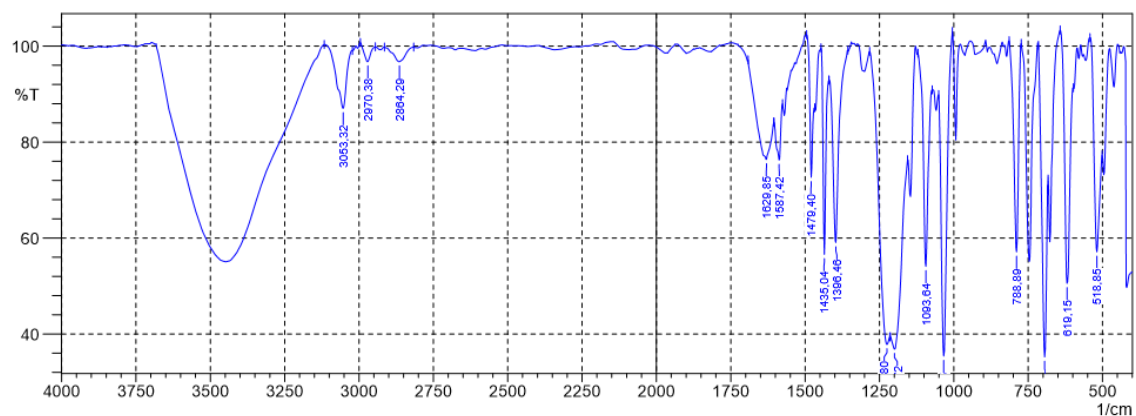
- [1] <http://www.who.int/cancer/en/>, acessado em 14/10/2016.
- [2] <http://www.wcrf.org/int/cancer-facts-figures/worldwide-data>, acessado em 14/03/2016.
- [3] <https://www.ligacontracancro.pt/metodos-de-tratamento/>, acessado em 14/03/2016.
- [4] A.W. Prestayko, *Cisplatin: Current Status and New Developments*, Elsevier Science, 1<sup>o</sup> Edição, Atlanta, Georgia 2013
- [5] S.H. van Rijt, P.J. Sadler, Current applications and future potential for bioinorganic chemistry in the development of anticancer drugs, *Drug Discov. Today* 14 (2009) 1089–1097.
- [6] A.A. Nazarov, C.G. Hartinger, P.J. Dyson, Opening the lid on piano-stool complexes: An account of ruthenium(II)arene complexes with medicinal applications, *J. Organomet. Chem.* 751 (2014) 251–260.
- [7] S. Leijen, S.A. Burgers, P. Baas, D. Pluim, M. Tibben, E. van Werkhoven, E. Alessio, G. Sava, J.H. Beijen, J.H.M. Schellens, Phase I/II study with ruthenium compound NAMI-A and gemcitabine in patients with non-small cell lung cancer after first line therapy, *Invest new drugs*, Springer Science Business Media, New York 2014.
- [8] A.M. Merlot, D.S. Kalinowski, D.R. Richardson, Unraveling the mysteries of serum albumin - more than just serum protein, *Front. Physiol.* 5 (2014) 1-7.
- [9] J.C. Pessoa, I. Tomaz, Transport of therapeutic vanadium and ruthenium complexes by blood plasma components., *Curr. Med. Chem.* 17 (2010) 3701–3738.
- [10] M. Montani, G.V.B. Pazmay, A. Hysi, G. Lupidi, R. Pettinari, V. Gambini, M. Tilio, F. Marchetti, C. Pettinari, S. Ferraro, M. Iezzi, C. Marchini, A. Amici, The water soluble ruthenium(II) organometallic compound [Ru(p-cymene)(bis(3,5 dimethylpyrazol-1-yl)methane)Cl]Cl suppresses triple negative breast cancer growth by inhibiting tumor infiltration of regulatory T cells, *Pharmacol Res.* 107 (2016) 282-290.
- [11] M. Vadori, S. Pacor, F. Vita, S. Zorzet, M. Cocchiello, G. Sava, Features and full reversibility of the renal toxicity of the ruthenium-based drug NAMI-A in mice, *J. Inorg. Biochem.* 118 (2013) 21–27.
- [12] O. Mazuryk, K. Kurpiewska, K. Lewinski, G. Stochel, M. Brindell, Interaction of apotransferrin with anticancer ruthenium complexes NAMI-A and its reduced form, *J. Inorg. Biochem.* 116 (2012) 11–18.
- [13] V. Singh, G.K. Azad, P. Mandal, M.A. Reddy, R.S. Tomar, Anti-cancer drug KP1019 modulates epigenetics and induces ADN damage response in *Saccharomyces cerevisiae*, *FEBS Lett.* 588 (2014) 1044–1052.
- [14] A.L. Noffke, A. Habtemariam, A.M. Pizarro, P.J. Sadler, Designing organometallic compounds for catalysis and therapy., *Chem. Commun. (Camb).* 48 (2012) 5219–46.
- [15] R.E. Morris, R.E. Aird, P.S. Murdoch, H. Chen, J. Cummings, N.D. Hughes, S. Parsons, A. Parkin, G. Boyd, D.I. Jodrell, P.J. Sadler, Inhibition of Cancer Cell Growth by Ruthenium(II) Arene Complexes, *J. Med. Chem.*, 44 (2001) 3616-3621.
- [16] B.S. Murray, M. V. Babak, C.G. Hartinger, P.J. Dyson, The development of RAPTA compounds for the treatment of tumors, *Coord. Chem. Rev.* 306 (2016) 86–114.
- [17] P.J.A. Madeira, T.S. Morais, T.J.L. Silva, P. Florindo, M.H. Garcia, Gas-phase behaviour of Ru(II) cyclopentadienyl-derived complexes with N-coordinated ligands by electrospray ionization mass spectrometry: fragmentation pathways and energetics, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 26 (2012) 1675-1686.
- [18] C. Streu, L. Feng, P.J. Carroll, J. Maksimoska, R. Marmorstein, E. Meggers, P-donor ligand containing ruthenium half-sandwich complexes as protein kinase inhibitors, *Inorganica Chim. Acta.* 377 (2011) 34–41.
- [19] J.É. Debreczeni, A.N. Bullock, G.E. Atilla, D.S. Williams, H. Bregman, S. Knapp, E. Meggers, Ruthenium Half-Sandwich complexes Bound to Protein Kinase Pim-1, *Bio. Chem.*, 45 (2006) 1580-1585.
- [20] Eric Meggers, Exploring biologically relevant chemical space with metal complexes, *Curr. Opin. Chem. Biol.* 11 (2007) 287-292.

- [21] M.H. Garcia, T.S. Morais, P. Florindo, M.F.M. Piedade, V. Moreno, C. Ciudad, V. Noe, Inhibition of cancer cell growth by ruthenium(II) cyclopentadienyl derivate complexes with heteroaromatic ligands, *J. Inorg. Biochem.* 103 (2009) 354-361.
- [22] V. Moreno, M. Font-Bardia, T. Calvet, J. Lorenzo, F.X. Avilés, M.H. Garcia, T.S. Morais, A. Valente, M.P. Robalo, DNA interaction and cytotoxicity of new ruthenium(II) cyclopentadienyl derivative complexes containing heteroaromatic ligands, *J. Inorg. Biochem.* 105 (2011) 241-249.
- [23] T.S. Morais, T.J.L. Silva, F. Marques, M.P. Robalo, F. Avecilla, P.J.A. Madeira, P.J.G. Mendes, I. Santos, M.H. Garcia, Synthesis of organometallic ruthenium(II) complexes with strong activity against several human cancer cell lines, *J. Inorg. Biochem.* 114 (2012) 65-74.
- [24] V. Moreno, J. Lorenzo, F.X. Aviles, M.H. Garcia, J.P. Ribeiro, T.S. Morais, P. Florindo, M.P. Robalo, Studies of the Antiproliferative Activity of Ruthenium(II) Cyclopentadienyl-Derived Complexes with Nitrogen Coordinates Ligands, *Bioinorg. Chem. Appli.* (2010).
- [25] T.S. Morais, F. Santos, L. Côte-Real, F. Marques, M.P. Robalo, P.J.A. Madeira, M.H. Garcia, Biological activity and cellular uptake of  $[Ru(\eta^5-C_5H_5)(PPh_3)(Mebpy)][CF_3SO_3]$  complex, *J. Inorg. Biochem.*, 122 (2013) 8-17.
- [26] T.S. Morais, M.H. Garcia, On the Track to cancer Therapy: Paving New Ways With Ruthenium Organometallics, *Advanced in Organometallic Chemistry and Catalysis: The Silver/Gold Jubilee International Conference on Organometallic Chemistry Celebratory Book*, 1<sup>o</sup> Edição, (2014) 581-586.
- [27] A.I. Tomaz, T. Jakusch, T.S. Morais, F. Marques, R.F.M. de Almeida, F. Mendes, E.A. Enyedy, I. Santos, J.C. Pessoa, T. Kiss, M.H. Garcia,  $[RuII(\eta^5-C_5H_5)(bipy)(PPh_3)]^+$ , a promising large spectrum antitumor agent: cytotoxic activity and interaction with human serum albumin., *J. Inorg. Biochem.* 117 (2012) 261-269.
- [28] T.S. Morais, F.C. Santos, T.F. Jorge, L. Côte-real, P.J. Amorim, F. Marques, M.P. Robalo, A. Matos, I. Santos, M.H. Garcia, New water-soluble ruthenium (II) cytotoxic complex : Biological activity and cellular distribution, *J. Inorg. Biochem.* 130 (2014) 1-14.
- [29] L. Côte-Real, A.P. Matos, I. Alho, T.S. Morais, A.I. Tomaz, M.H. Garcia, I. Santos, M.P. Bicho, F. Marques, Cellular Uptake Mechanisms of an Antitumor Ruthenium Compound: The Endosomal/Lysosomal System as a Target for Anticancer Metal-Based Drugs, *Microsc. Microanal.* (2013) 1-9.
- [30] A. Valente, M.H. Garcia, F. Marques, Y. Miao, C. Rousseau, P. Zinck, First polymer "ruthenium-cyclopentadienyl" complex as potential anticancer agent, *J. Inorg. Biochem.* 127 (2013) 79-81.
- [31] J. Osredkar, N. Sustar, Copper and Zinc, Biological Role and Significance of Copper/Zinc, *J. Clinic Toxicol*, 3 (2011) 1-18.
- [32] N.J. Sanghamitra, P. Phatak, S. Das, A.G. Samuelson, K. Somasundaram, Mechanism of Cytotoxicity of Copper(I) complexes of 1,2-Bis(diphenylphosphino)ethane, *J. Med. Chem.* 48 (2005) 977-985.
- [33] M. Porchia, A. Dolmella, V. Gandin, C. Marzano, M. Pellei, V. Peruzzo, F. Refosco, C. Santini, F. Tisato, Neutral and charged phosphine/scorpionate copper(I) complexes: Effects of ligand assembly on their antiproliferative activity, *Eur. J. Med. Chem.* 59 (2013) 218-226.
- [34] S. Dorotíková, J. Kozisková, M. Malcek, K. Jomová, P. Herich, K. Plevová, K. Briestenská, A. Chalupková, J. Mistríková, V. Milata, D. Dvoranová, L. Bucinský, Copper(II) complexes with new fluoroquinolones: Synthesis, structure, spectroscopic and theoretical study, DNA damage, cytotoxicity and antiviral activity, *J. Inorg. Biochem.* 150 (2015) 160-173.
- [35] M. Plotek, K. Dudek, A. Kyzioł, Selected copper (I) complexes as potential anticancer agent, *CHEMIK* 67 (2013) 1181-1190.
- [36] J. Lopes, D. Alves, T.S. Morais, P.J. Costa, M.F.M. Fátima, F. Marques, M.J. Villa de Brito, M.H. Garcia, New copper (I) and heteronuclear copper(I)-ruthenium(II) complexes: Syntheses, structural characterization and cytotoxicity, *J. Inorg. Biochem.* 169 (2017) 68-78.
- [37] M. Wenzel, E. Bigaeva, P. Richard, P. Le Gendre, M. Picquet, A. Casini, E. Bodio, New heteronuclear gold(I)-platinum(II) complexes with cytotoxic properties: Are two metals better than one, *J. Inorg. Biochem.* 141 (2014) 10-16.

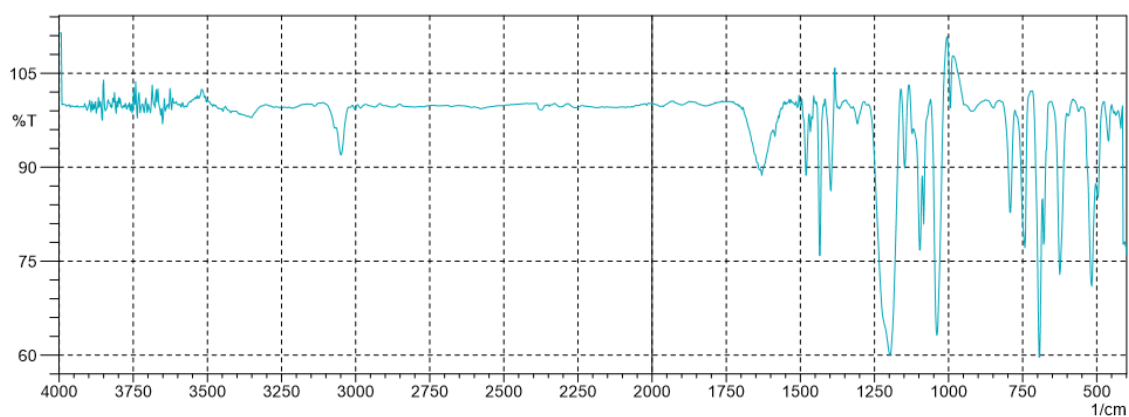
- [38] F. Rahman, A. Ali, I. Khan, R. Guo, L. Chen, H. Wang, Z. Li, Y. Lin, D. Zhang, Synthesis and characterization of trans-Pt(II)(salicylaldimine)(pyridine/pyridine-4-carbinol)Cl complexes: In vivo inhibition of E. Coli growth and in vitro anticancer activities, *Polyhedron*, 100 (2015) 264-270.
- [39] Duward F. Shriver, *Inorganic Syntheses*, Volume XIX, in Chief Illinois, 1976.
- [40] <http://www.ilpi.com/organomet/fluxional.html> acedido a 7/11/2016.
- [41] W.J. Geary, The use of conductivity measurements in organic solvents for the characterization of coordination compounds, *Coord. Chem. Rev.* 7 (1971) 81-122.
- [42] M. I. Bruce, J. Windsor, Cyclopentadienyl-Ruthenium and Osmium Chemistry; *J. Chem.* 30 (1977) 1601-1604.
- [43] <http://lipidlibrary.aocs.org/Analysis/content.cfm?ItemNumber=40374#F>
- [44] [ovariancancerday.org/pt/](http://ovariancancerday.org/pt/); acedido em 8/11/2016.
- [45] T. Ibrahim, C. Liverani, L. Mercatali, E. Sacanna, M. Zannoni, F. Fabri, W. Zoli, D. Amadori, Cisplatin in combination with zoledronic acid: A synergistic effect in triple-negative breast cancer cell lines; *Int. J. Oncol.* 42 (2013) 1263-1270.
- [46] I.S. Harris, A.E. Treloar, C. Lam, T.W. Mak, Glutathione and Thioredoxin Antioxidant Pathways Synergize to Drive Cancer Initiation and Progression, *Cancer Cell.* 27 (2015) 211-222.
- [47] Stéphanie Blockhuys, Barbara Vanhoecke, Joël Smet, Boel De Paepe, Rudy Van Coster, Marc Bracke, and Carlos De Wagter, Unraveling the Mechanisms Behind the Enhanced MTT Conversion by Irradiated Breast Cancer Cells, *Radia. Res.* 179 (2013) 433-443.
- [48] [www.iberfar.pt/](http://www.iberfar.pt/) acedido a 12/10/2016.
- [49] D. F. Schriver e M. A. Drezdon; *The Manipulation of Air-Sensitive Compounds*; 2<sup>nd</sup> edition, John Wiley and Sons, New York, 1986.
- [50] D. D. Perrin, W. Armarego, D. R. Perrin; *Purifications of Laboratory Chemical*, 2<sup>nd</sup> edition, Pergamon Press, New York, 1980.
- [51] N.G. Connelly, W.E. Geiger; *Chemical redox agents of organometallic chemistry*, *Chem. Rev.* 96, (1996), 877-910.
- [52] M.J. Frisch, G.W. Trucks, H.B. Schlegel, G.E. Scuseria, G. Scalmani et al., Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2009.
- [53] C. Adamo, V. Barone, *J. of Chemical Physics*, 110 (1999) 6158-6170.
- [54] L.E. Roy, P.J. Hay, R.L. Martin, Revised basis sets for the LANL effective core potential, *Comput. Theor. Chem.* 4 (2008) 1029-1031.
- [55] R. Ditchfield, W.J. Hehre, J.A. Pople, Self-Consistent Molecular-Orbital, an Extended Gaussian-Type Basis for Molecular-Orbital Studies of Organic Molecules, *Chem. Phys.* 54 (1971) 724-728.
- [56] A.V. Marenich, C.J. Cramer, D.G. Truhlar, Performance of SM6, SM8, and SMD on the SAMPL1 Test Set for the Prediction of Small-Molecule Solvation Free Energies, *J. Phys. Chem.B.* 113 (2009) 6378-6396.
- [57] Tânia S. Morais, Tese de Douturamento: Síntese de novos complexos bioorganometálicos de ruténio e avaliação das suas propriedades anti-tumorais, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Lisboa (2013).
- [58] Yann Jousseume, Tese de Licenciatura: Synthesis of copper(I) complexes with potential antitumor application, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Lisboa (2016).
- [59] M. Muñoz, R. Cedeño, J. Rodríguez, W. P.W van der Knaap, E. Mialhe, E. Bachère, Measurement of reactive oxygen intermediate production in haemocytes of the penaeid shrimp, *Penaeus vannamei*. *Aqua.* 191, 2000, 89-107.
- [60] A. Muscella, N. Calabriso, C. Vetrugno, F. P. Fanizzi, S. A. De Pascali, C. Storelli, S. Marsigliante. The platinum (II) complex [Pt(O,O'-acac)(γ-acac)(DMS)] alters the intracellular calcium homeostasis in MCF-7 breast cancer cells. *Biochem. Pharmacol.* 81 (2010) 91-103.

## Anexos

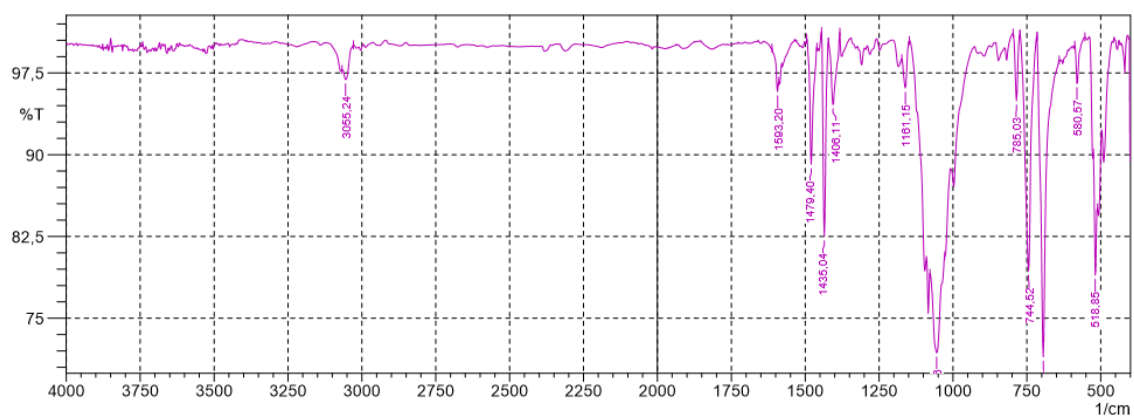
### I - Espectros Infravermelho



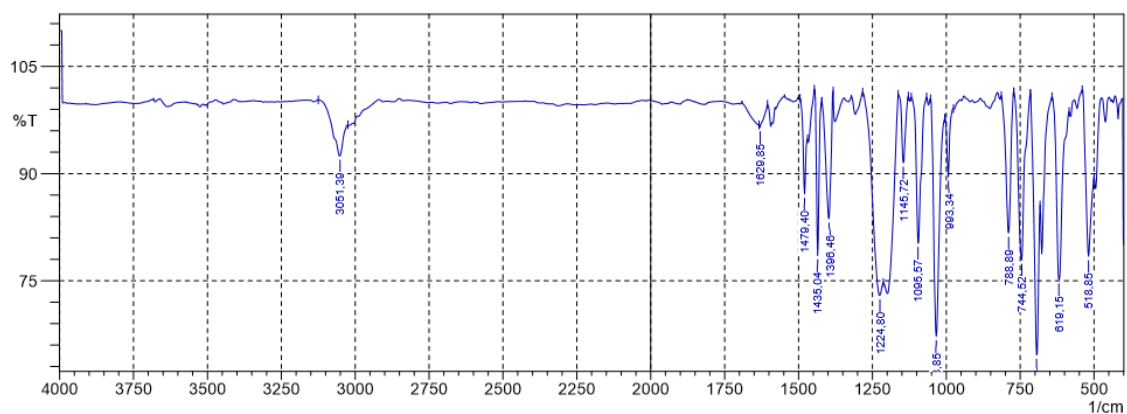
**Figura I** – Espectro de FT-IR do complexo  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  (1) em KBr.



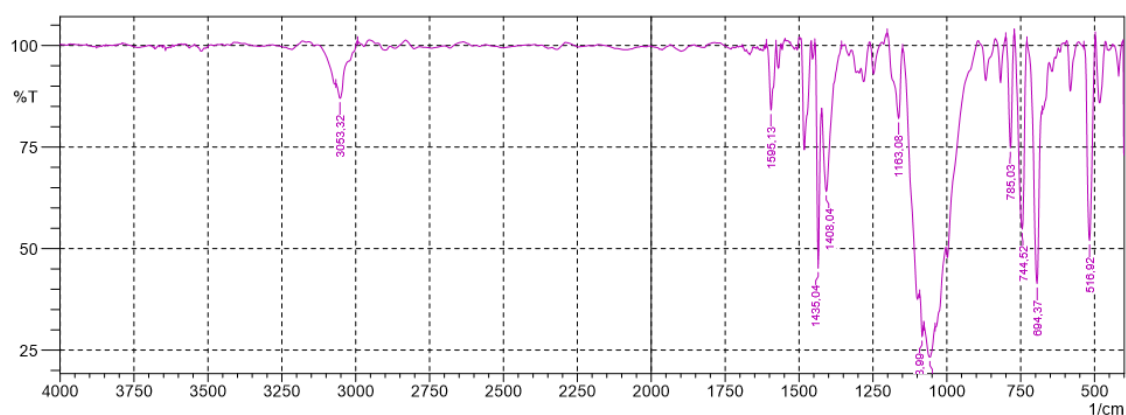
**Figura II** – Espectro de FT-IR do complexo  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\text{dpp})][\text{BF}_4]$  (2) em KBr.



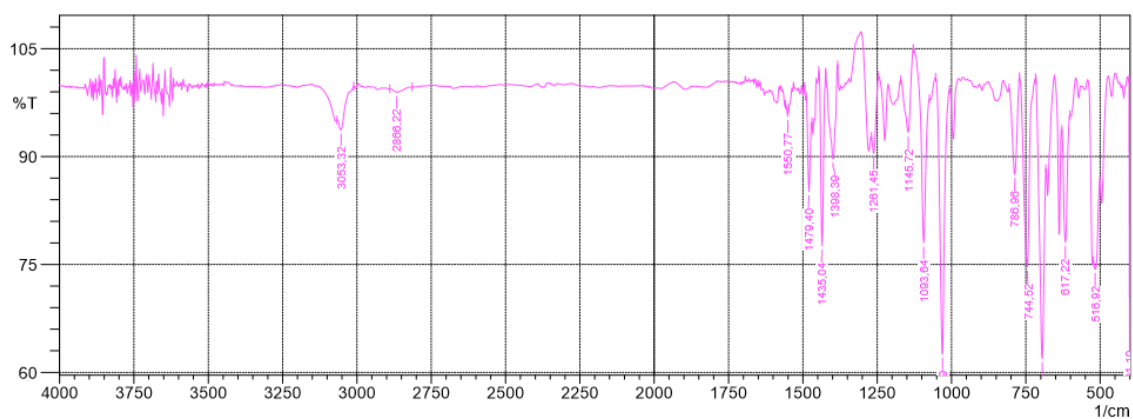
**Figura III** – Espectro de FT-IR do complexo  $[(\text{PPh}_3)_2\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2][\text{BF}_4]_2$  (3) em KBr.



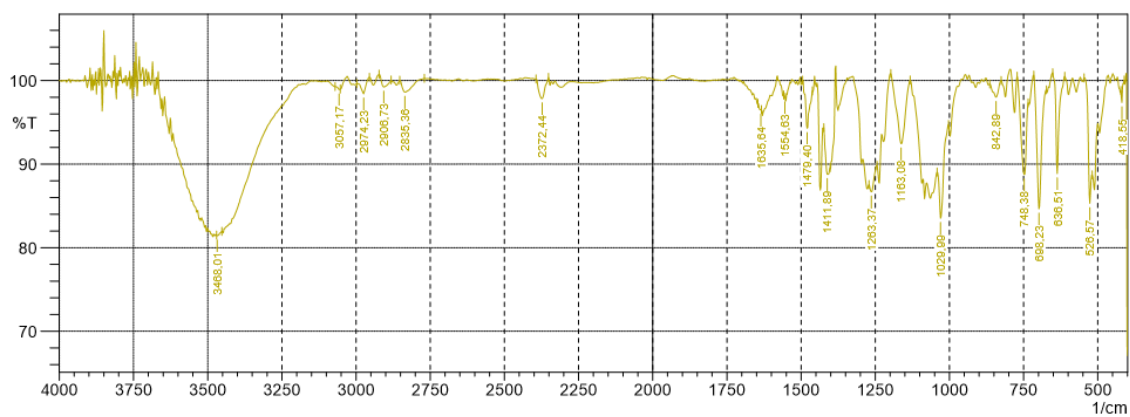
**Figura IV** – Espectro de FT-IR do complexo  $[(m\text{TPPMSNa})_2\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2][\text{BF}_4]_2$  (4) em KBr.



**Figura V** – Espectro de FT-IR do complexo  $[(\text{dppe})\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{dppe})][\text{BF}_4]_2$  (5) em KBr.

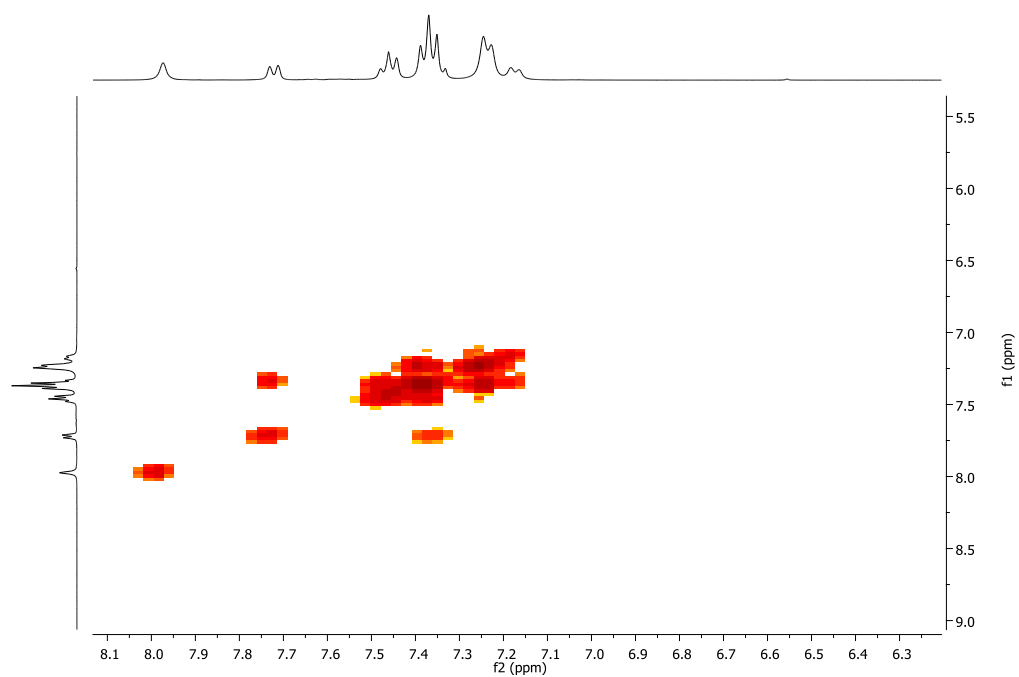


**Figura VI** – Espectro de FT-IR do complexo  $[\text{Cu}(m\text{TPPMSNa})_2(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (7) em KBr.

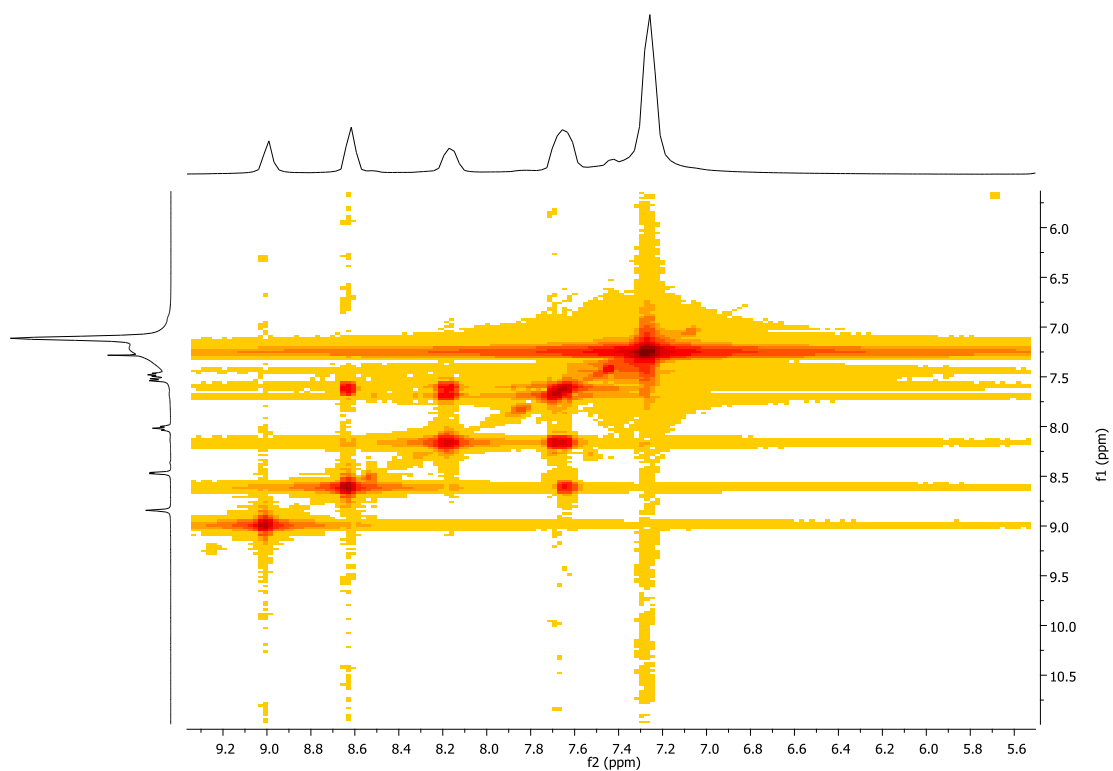


**Figura VII** – Espectro de FT-IR do complexo  $[\text{Cu}(\text{dppe})(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (8) em KBr.

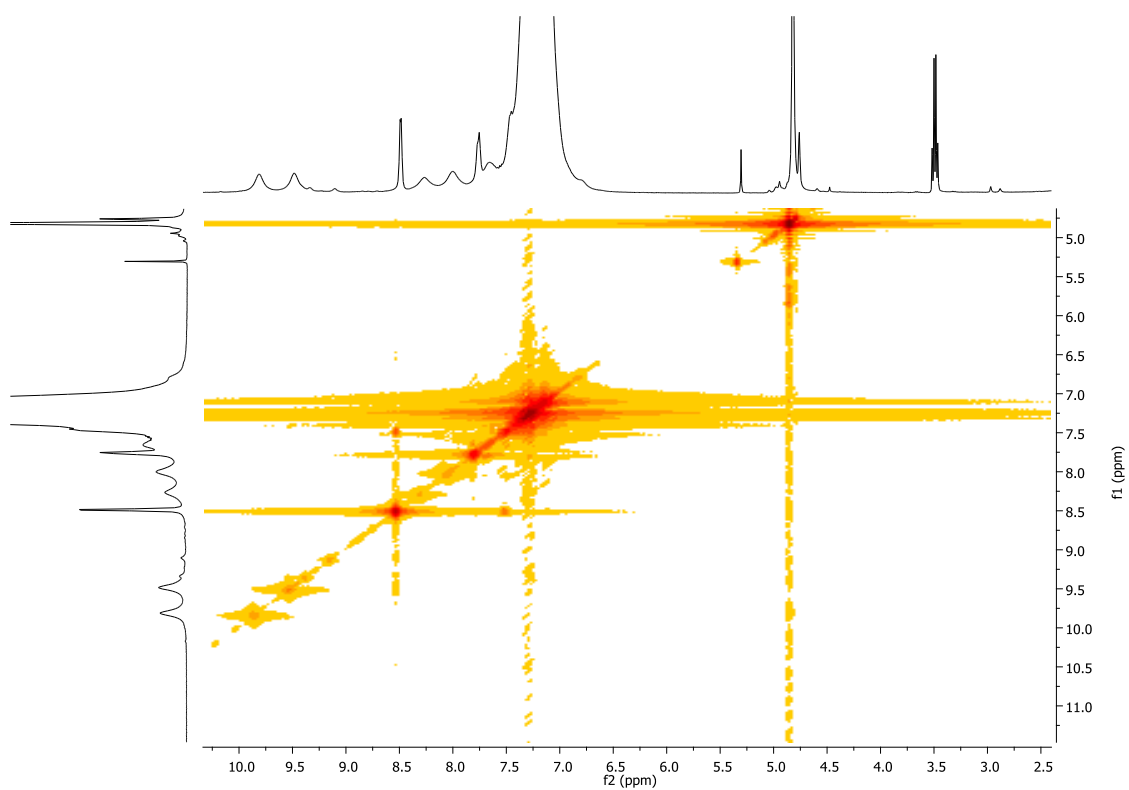
## II – Espectros RMN bidimensionais (cosy e HMBC)



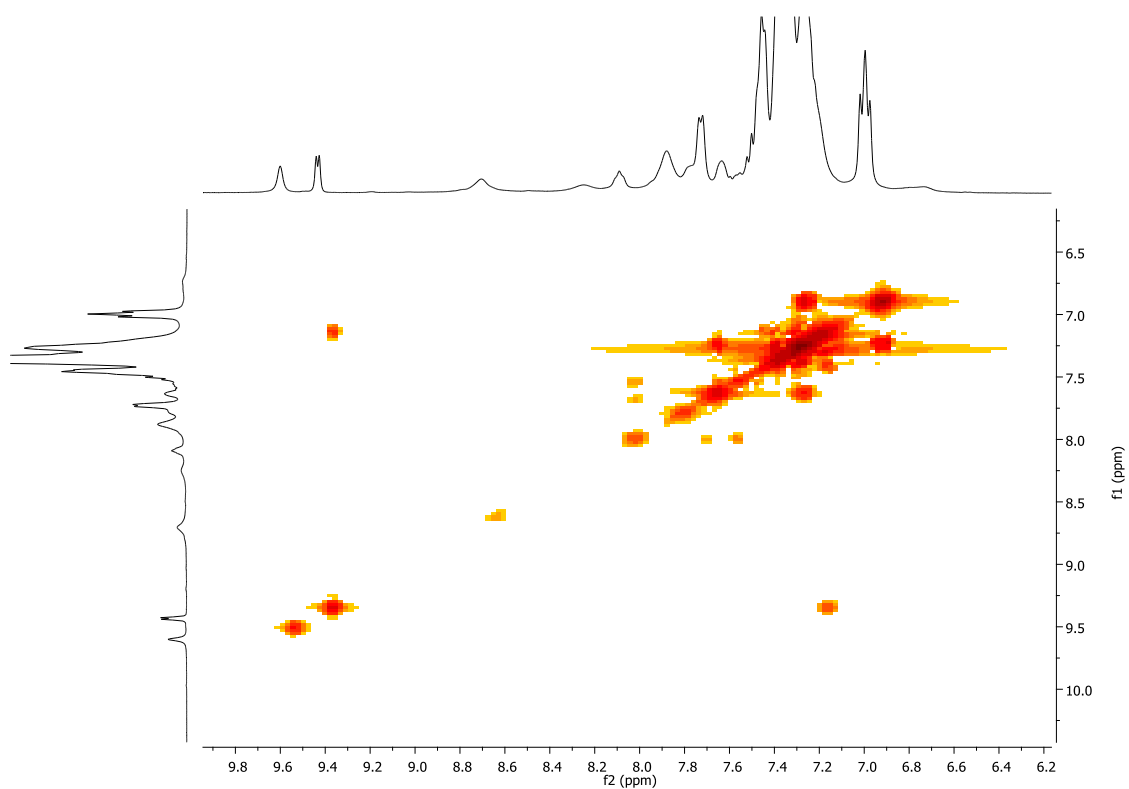
**Figura VIII** - Espectro de cosy do complexo  $[\text{Cu}(\text{mTPPMSNa})_2(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  (1) em  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ .



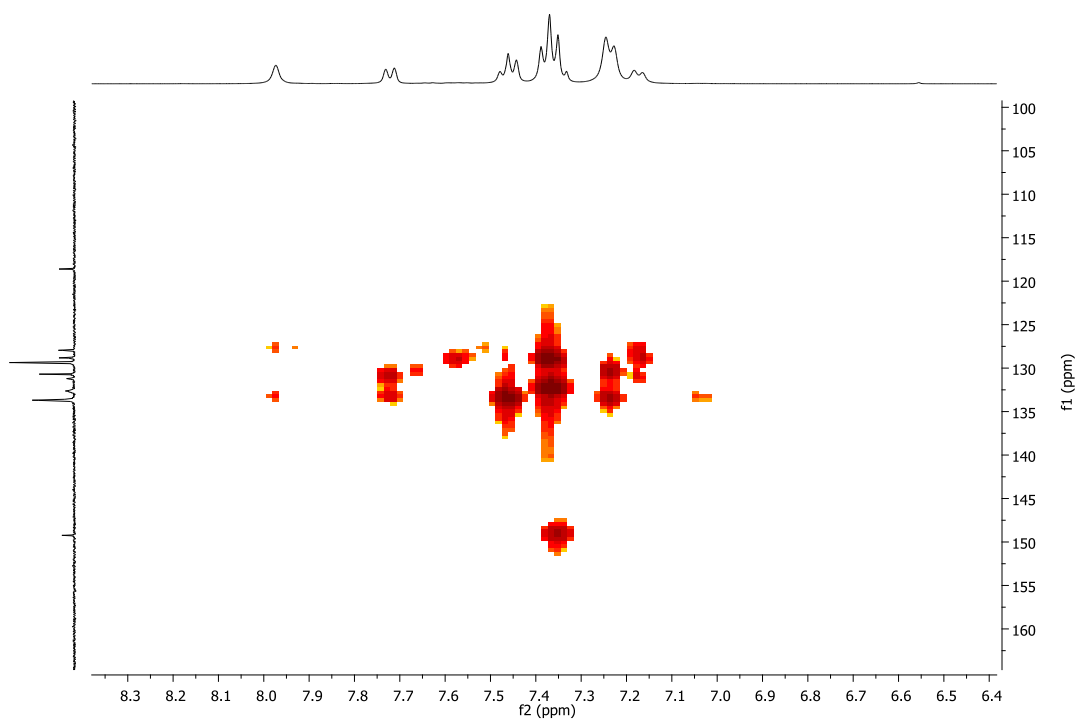
**Figura IX** - Espectro cosy do complexo  $[(PPh_3)_2Cu(\mu-dpp)Cu(PPh_3)_2][BF_4]_2$  (3) em  $CDCl_3$ .



**Figura X** – Espectro cosy do complexo  $[Cu(PPh_3)_2(\mu-dpp)RuCp(PPh_3)][CF_3SO_3][BF_4]$  (6) em  $CDCl_3$ .

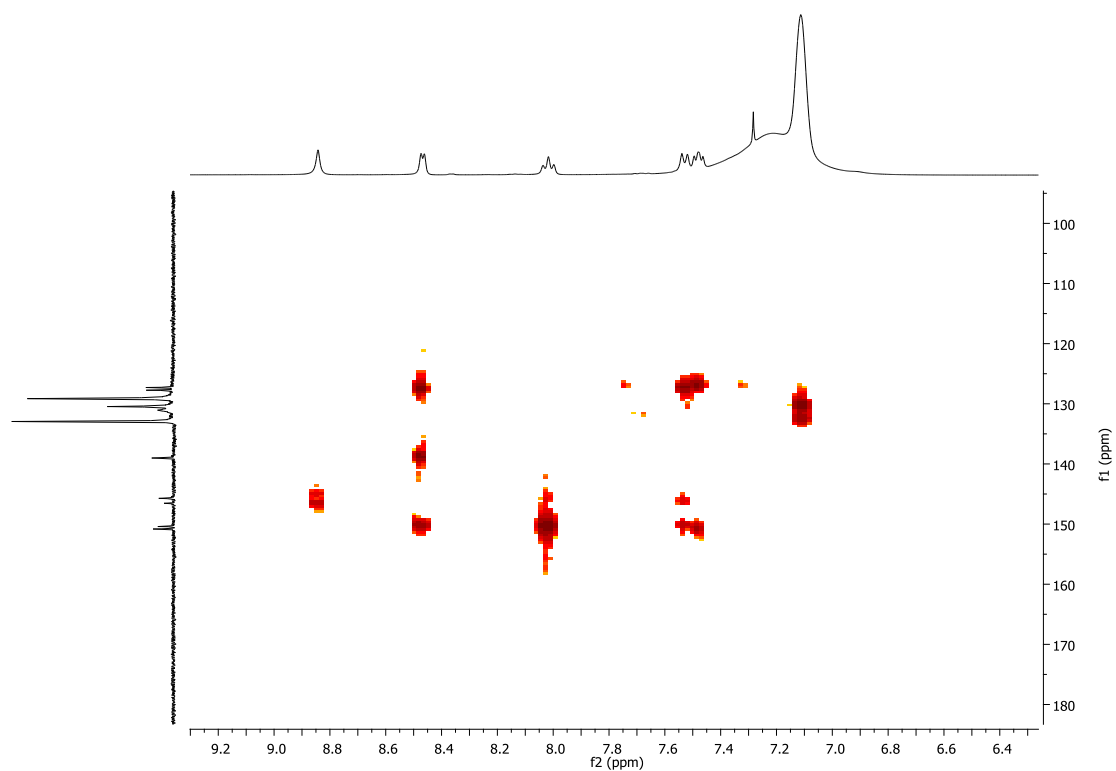


**Figura XI** - Espectro cosy do complexo  $[\text{Cu}(\text{mTPPMSNa})_2(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (7) em  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ .

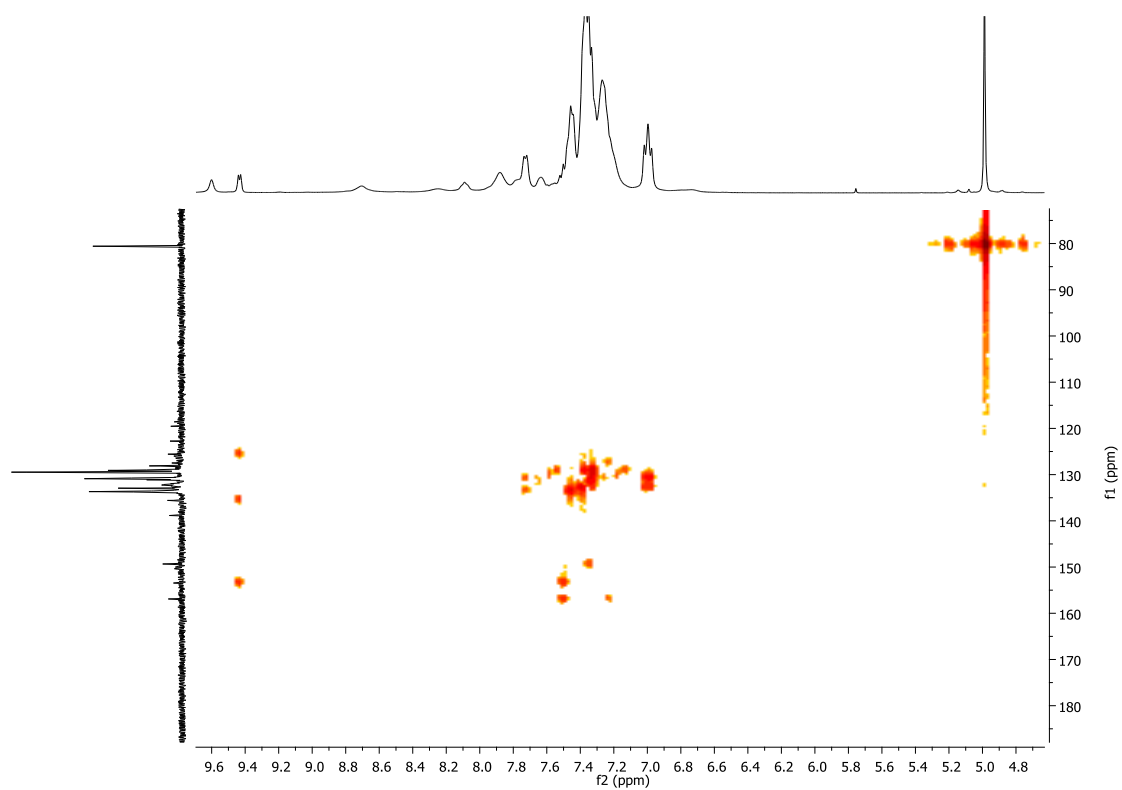


**Figura XII**- Espectro HMBC do complexo  $[\text{Cu}(\text{mTPPMSNa})_2(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  (1) em  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ .





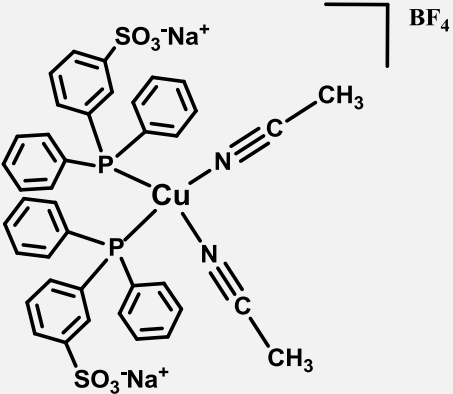
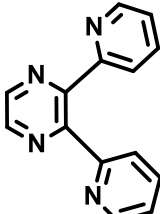
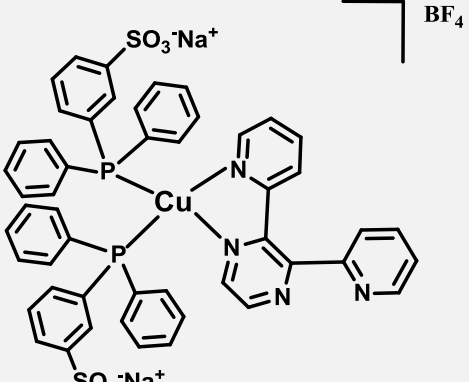
**Figura XIII** - Espectro HMBC do complexo  $[(PPh_3)_2Cu(\mu-dpp)Cu(PPh_3)_2][BF_4]_2$  (3) em  $CDCl_3$ .



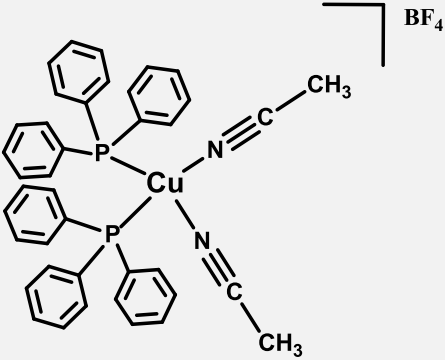
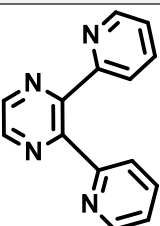
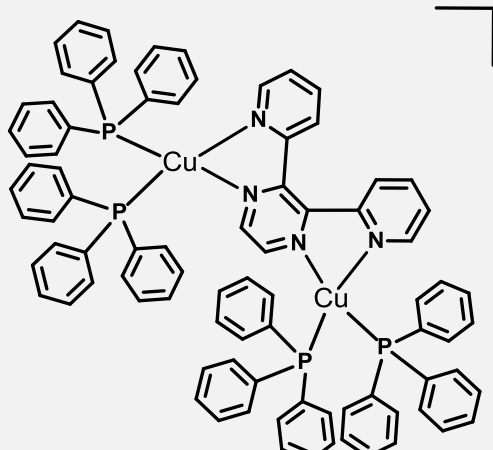
**Figura XIV**- Espectro HMBC do complexo  $[Cu(mTPPMSNa)_2(\mu-dpp)RuCp(PPh_3)][CF_3SO_3][BF_4]$  (7) em  $(CD_3)_2SO$ .

### III – Espectroscopia de UV-vis

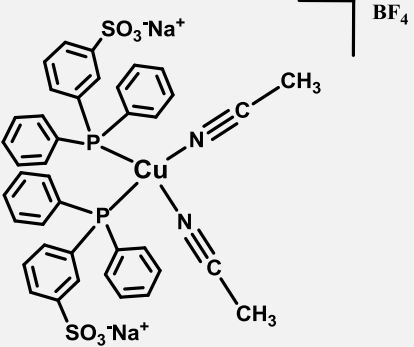
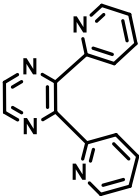
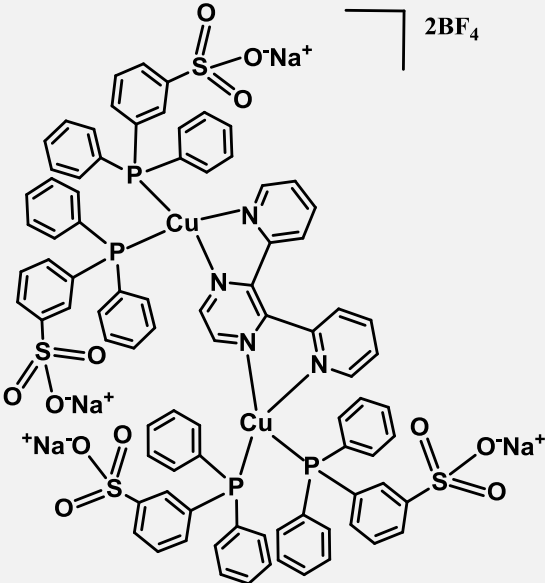
**Tabela I** - Dados de UV-vis dos complexos  $[\text{Cu}(\text{mTPPMSNa})_2(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  (1) e  $[\text{Cu}(\text{mTPPMSNa})_2(\text{dpp})][\text{BF}_4]$  (2) e do ligando dpp livre, em diclorometano.

Composto	$\lambda_{\text{máx}}/\text{nm}$ ( $\epsilon$ / $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ )
	266 (20280,7)
	286 (28300) 248 (21300)
	409 (1576,6) 264 (21943,9)

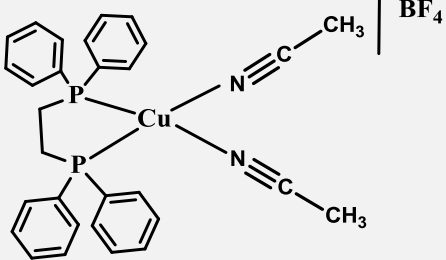
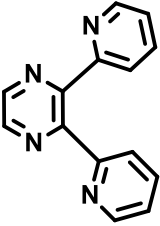
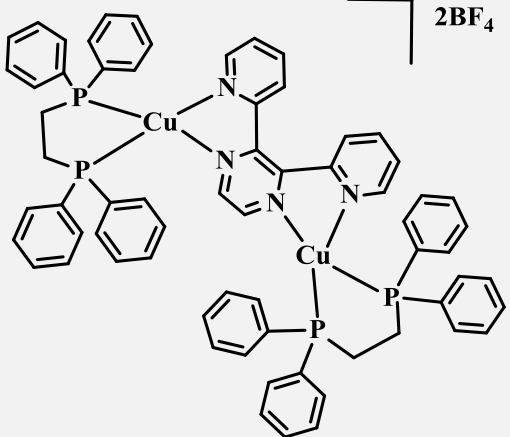
**Tabela II** - Dados de UV-vis dos complexos  $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  e  $[(\text{PPh}_3)_2\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2][\text{BF}_4]_2$  (3) e do ligando dpp livre, em diclorometano.

Composto	$\lambda_{\text{máx.}}/\text{nm}$ ( $\epsilon/\text{M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ )
	278 (15960,8)
	286 (28300) 248 (21300)
	428 (2566,2) 315 (7969,9) 257 (29702)

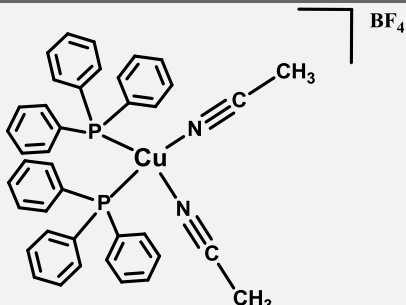
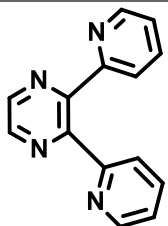
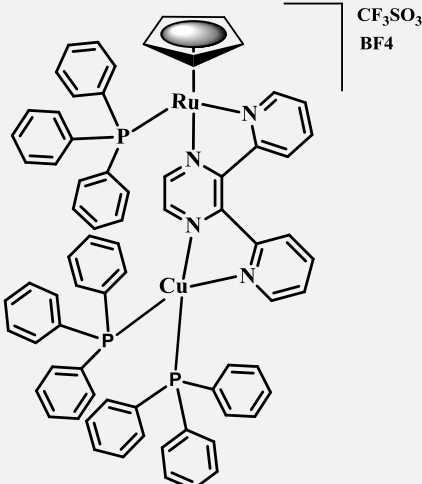
**Tabela III** - Dados de UV-vis dos complexos  $[\text{Cu}(\text{mTPPMSNa})_2(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  (1) e  $[(\text{mTPPMSNa})_2\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{mTPPMSNa})_2][\text{BF}_4]_2$  (4) e do ligando dpp livre, em diclorometano.

Composto	$\lambda_{\text{máx}}/\text{nm}$ ( $\epsilon$ / $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ )
	266 (20280,7)
	286 (28300) 248 (21300)
	416 (12806,3) 282 (96886,2)

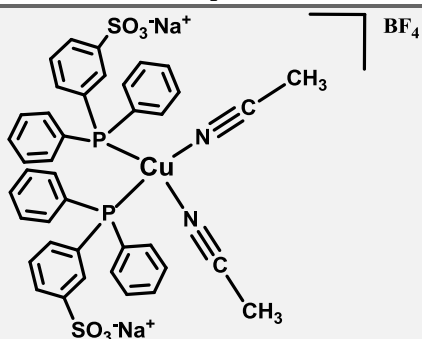
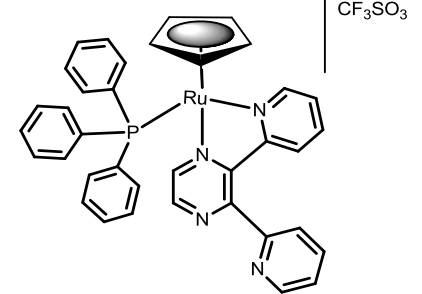
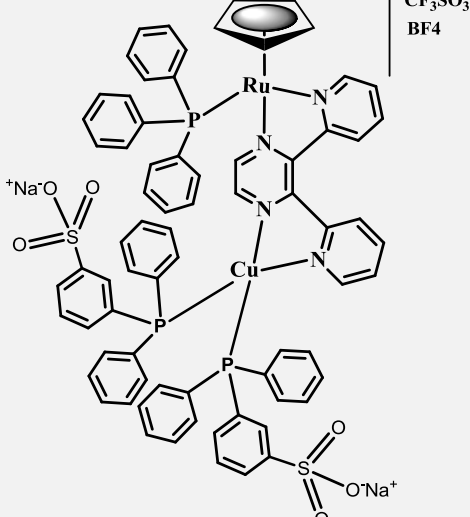
**Tabela IV** - Dados de UV-vis dos complexos  $[\text{Cu}(\text{dppe})(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  e  $[(\text{dppe})\text{Cu}(\mu\text{-dpp})\text{Cu}(\text{dppe})][\text{BF}_4]_2$  (5) e do ligando dpp livre, em diclorometano.

Composto	$\lambda_{\text{máx.}}/\text{nm}$ ( $\epsilon / \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ )
	-----
	286 (28300) 248 (21300)
	485 (6964,4) 293 (38964,8)

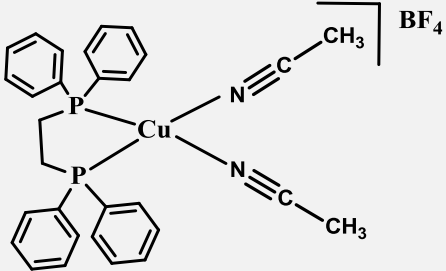
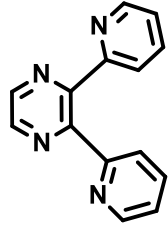
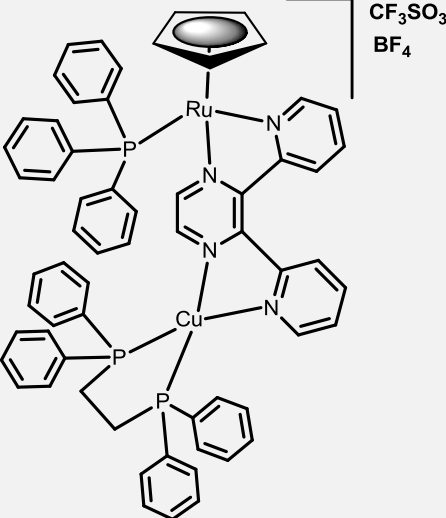
**Tabela V** - Dados de UV-vis dos complexos  $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  e  $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (6) e do ligando dpp livre, em diclorometano.

Composto	$\lambda_{\text{máx.}}/\text{nm}$ ( $\epsilon$ / $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ )
	266 (20280,7)
	286 (28300) 248 (21300)
	421 (10957,2) 328 (28365) 259 (114148,4)

**Tabela VI** - Dados de UV-vis dos complexos  $[\text{Cu}(\text{mTPPMSNa})_2(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  (1) e  $[\text{Cu}(\text{mTPPMSNa})_2(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (7) e do ligando dpp livre, em diclorometano.

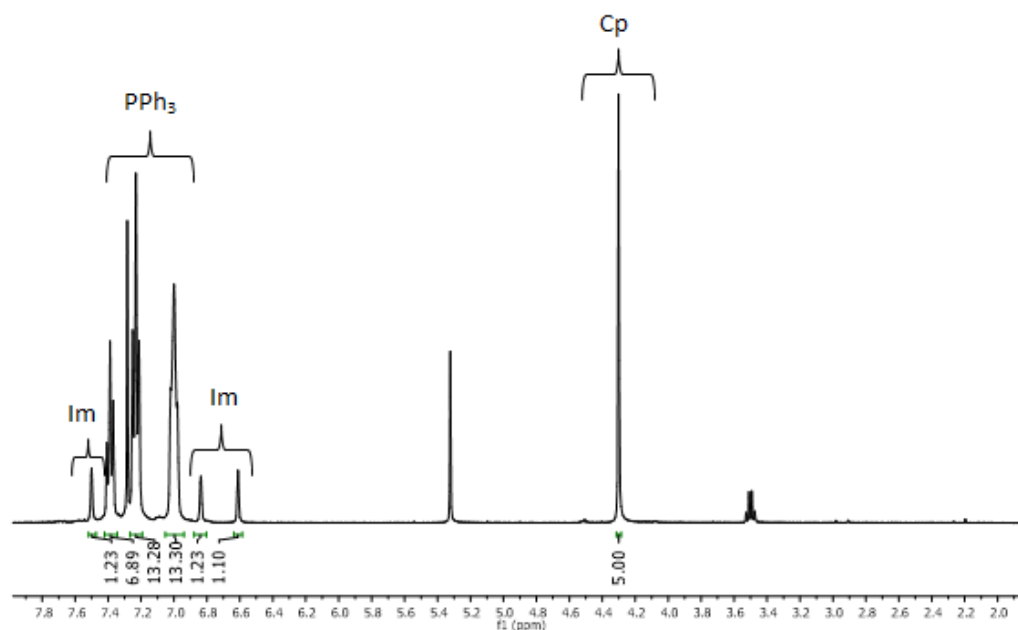
Composto	$\lambda_{\text{máx.}}/\text{nm}$ ( $\epsilon$ / $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ )
	266 (20280,7)
	508 (1723,2) 444 (3389) 305 (11071,5)
	504 (3910,5) 444 (7387,8) 308 (28533, 9) 277 (47379,5)

**Tabela VII** - Dados de UV-vis dos complexos  $[\text{Cu}(\text{dppe})(\text{CH}_3\text{CN})_2][\text{BF}_4]$  e  $[\text{Cu}(\text{dppe})(\mu\text{-dpp})\text{RuCp}(\text{PPh}_3)][\text{CF}_3\text{SO}_3][\text{BF}_4]$  (8) e do ligando dpp livre, em diclorometano.

Composto	$\lambda_{\text{máx.}}/\text{nm}$ ( $\epsilon$ / $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ )
	-----
	286 (28300) 248 (21300)
	474 (5504,8) 274 (28376,5)



#### IV – Espectro $^1\text{H}$ RMN da Reacção $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}] + 1,1'$ -Carbonildiimidazole



**Figura XV-** Espectro  $^1\text{H}$  RMN do complexo formado na  $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}] + 1,1'$ -Carbonildiimidazole.


#### V – Fichas MSDs dos reagentes e solventes


<b>Nome</b>	2-2'-bipiridina-4-4'-ácido dicarboxílico
<b>CAS</b>	6813-38-3
<b>Classificação da substância</b>	Irritante
<b>Pictogramas</b>	
<b>Palavra sinal</b>	Atenção
<b>Declaração de perigo:</b>	
<b>H315</b>	Provoca irritação cutânea
<b>H319</b>	Provoca irritação ocular grave
<b>H335</b>	Pode provocar irritação das vias respiratórias
<b>Declaração de precaução:</b>	
<b>P261</b>	Evitar respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis
<b>P305 + P351 + P338</b>	SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar.
<b>EPI</b>	Máscara, óculos de segurança, luvas, bata


<b>Nome</b>	2,3-Bis(2-piridil)pirazina
<b>CAS</b>	25005-96-3
<b>Classificação da substância</b>	Irritante para os olhos, vias respiratórias e pele
<b>Pictogramas</b>	
<b>Palavra sinal</b>	Atenção
<b>Declaração de perigo:</b>	
<b>H315</b>	Provoca irritação cutânea
<b>H319</b>	Provoca irritação ocular grave
<b>H335</b>	Pode provocar irritação das vias respiratórias
<b>Declaração de precaução:</b>	
<b>P261</b>	Evitar respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis
<b>P305 + P351 + P338</b>	SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar.
<b>EPI</b>	Máscara, óculos de segurança, luvas, bata


<b>Nome</b>	Acetato de etilo
<b>CAS</b>	141-78-6
<b>Classificação da substância</b>	Líquido inflamável, Irritante
<b>Pictogramas</b>	 
<b>Palavra sinal</b>	Perigo
<b>Declaração de perigo:</b>	
<b>H225</b>	Líquido e vapor facilmente inflamáveis
<b>H319</b>	Provoca irritação ocular grave
<b>H336</b>	Pode provocar sonolência ou vertigens
<b>Declaração de precaução:</b>	
<b>P210</b>	Manter afastado do calor/faísca/chama aberta/superfícies quentes. Não fumar
<b>P305 + P351 + P338</b>	SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar.
<b>P370 + P378</b>	Em caso de incêndio: para extinguir utilizar po seco ou areia seca
<b>P403 + P235</b>	Armazenar em local bem ventilado. Conservar em ambiente fresco
<b>EPI</b>	Máscara, óculos de segurança, luvas, bata


<b>Nome</b>	Acetonitrilo
<b>CAS</b>	75-05-8
<b>Classificação da substância</b>	Facilmente inflamável, Nocivo e Irritante
<b>Pictogramas</b>	 
<b>Palavra sinal</b>	Perigo
<b>Declaração de perigo:</b>	
<b>H225</b>	Líquido e vapor facilmente inflamáveis
<b>H302 + H312 + H332</b>	Nocivo por ingestão, contacto com a pele ou inalação
<b>H319</b>	Provoca irritação ocular grave
<b>Declaração de precaução:</b>	
<b>P210</b>	Manter afastado do calor/faísca/chama aberta/superfícies quentes. Não fumar
<b>P280</b>	Usar luvas de protecção/ protecção ocular/protecção facial
<b>P305 + P351 + P338</b>	SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar.
<b>EPI</b>	Máscara, óculos de segurança, luvas, bata
<b>Valor limite de exposição: VLE-MP</b>	20 ppm


<b>Nome</b>	Óxido de cobre
<b>CAS</b>	1317-39-1
<b>Classificação da substância</b>	Nocivo e Perigoso para o ambiente
<b>Pictogramas</b>	
<b>Palavra sinal</b>	Atenção
<b>Declaração de perigo:</b>	
<b>H302</b>	Nocivo por ingestão
<b>H410</b>	Muito tóxico para os organismos aquáticos com efeitos duradouros
<b>Declaração de precaução:</b>	
<b>P273</b>	Evitar libertação para o ambiente
<b>P501</b>	Eliminar o conteúdo/recipiente em instalação aprovada de distribuição de resíduos
<b>EPI</b>	Máscara, bata, luvas e óculos de segurança


<b>Nome</b>	Diclorometano
<b>CAS</b>	75-09-2
<b>Classificação da substância</b>	Nocivo e irritante
<b>Pictogramas</b>	
<b>Palavra sinal</b>	Atenção
<b>Declaração de perigo:</b>	
<b>H315</b>	Provoca irritação cutânea
<b>H319</b>	Provoca irritação ocular grave
<b>H335</b>	Pode provocar irritação das vias respiratórias
<b>H336</b>	Pode provocar sonolência ou vertigens
<b>H351</b>	Suspeito de provocar cancro
<b>H373</b>	Pode afectar os órgãos após exposição prolongada ou repetida
<b>Declaração de precaução:</b>	
<b>P261</b>	Evitar respirar vapores
<b>P281</b>	Usar o equipamento de protecção individual exigido
<b>P305 + P351 + P338</b>	SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar.
<b>EPI</b>	Óculos de segurança, bata, luvas, máscaras, trabalhar na hotte
<b>Valor limite de exposição:</b>	
<b>VLE-MP</b>	50 ppm


<b>Nome</b>	Etanol
<b>CAS</b>	64-17-5
<b>Classificação da substância</b>	Líquidos inflamáveis e Irritação ocular
<b>Pictogramas</b>	
<b>Palavra sinal</b>	Perigo
<b>Declaração de perigo:</b>	
<b>H225</b>	Líquido e vapor facilmente inflamáveis
<b>H319</b>	Provoca irritação ocular grave
<b>Declaração de precaução:</b>	
<b>P210</b>	Manter afastado do calor/faísca/chama aberta/superfícies quentes. Não fumar
<b>P305 + P351 + P338</b>	SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar.
<b>P370 + P378</b>	Em caso de incêndio: para extinguir utilizar po seco ou areia seca
<b>P403 + P235</b>	Armazenar em local bem ventilado. Conservar em ambiente fresco
<b>EPI</b>	Óculos de segurança, bata, luvas, máscaras, trabalhar na hotte
<b>Valor limite de exposição:</b>	
<b>VLE-CD</b>	1.0 ppm

<b>Nome</b>	Éter dietílico
<b>CAS</b>	60-29-7
<b>Classificação da substância</b>	Extremamente inflamável e nocivo
<b>Pictogramas</b>	
<b>Palavra sinal</b>	Perigo
<b>Declaração de perigo:</b>	
<b>H224</b>	Líquido e vapor extremamente inflamáveis
<b>H302</b>	Nocivo por ingestão
<b>H336</b>	Pode provocar sonolência ou vertigens
<b>Declaração de precaução:</b>	
<b>P210</b>	Manter afastado do calor/faísca/chama aberta/superfícies quentes. Não fumar
<b>P261</b>	Evitar respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis
<b>EPI</b>	Óculos de segurança, bata, luvas, máscaras, trabalhar na hotte
<b>Valor limite de exposição:</b>	
<b>VLE-MP</b>	400 ppm
<b>VLE-CD</b>	500 ppm

<b>Nome</b>	Hexano
<b>CAS</b>	110-54-3
<b>Classificação da substância</b>	Facilmente inflamável, nocivo, irritante e perigoso para o ambiente
<b>Pictogramas</b>	
<b>Palavra sinal</b>	Perigo
<b>Declaração de perigo:</b>	
<b>H225</b>	Líquido e vapor facilmente inflamáveis
<b>H304</b>	Pode ser mortal por ingestão e penetração nas vias respiratórias
<b>H315</b>	Provoca irritação cutânea
<b>H336</b>	Pode provocar sonolência ou vertigens
<b>H361f</b>	Suspeito de afectar a fertilidade
<b>H373</b>	Pode afectar os órgãos após exposição prolongada ou repetida
<b>H411</b>	Tóxico para os organismos aquáticos com efeitos duradouros
<b>Declaração de precaução:</b>	
<b>P210</b>	Manter afastado do calor/faísca/chama aberta/superfícies quentes. Não fumar.
<b>P261</b>	Evitar respirar os vapores
<b>P273</b>	Evitar a libertação para o ambiente
<b>P281</b>	Usar o equipamento de protecção individual exigido
<b>P301 + P310</b>	EM CASO DE INGESTÃO: contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico
<b>P331</b>	Não provocar o vômito
<b>EPI</b>	Óculos de segurança, bata, luvas, máscaras, trabalhar na hotte
<b>Valor limite de exposição</b>	
<b>VLE-MP</b>	50 ppm

<b>Nome</b>	Metanol
<b>CAS</b>	67-56-1
<b>Classificação da substância</b>	Facilmente inflamável e tóxico
<b>Pictogramas</b>	
<b>Palavra sinal</b>	Perigo
<b>Declaração de perigo:</b>	
<b>H225</b>	Líquido e vapor facilmente inflamáveis
<b>H301</b>	Tóxico por ingestão
<b>H311</b>	Tóxico em contacto com a pele
<b>H331</b>	Tóxico por inalação
<b>H370</b>	Afecta os órgãos
<b>Declaração de precaução:</b>	
<b>P210</b>	Manter afastado do calor/faísca/chama aberta/superfícies quentes. Não fumar
<b>P260</b>	Não respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis
<b>P280</b>	Usar luvas de protecção/ protecção ocular/protecção facial
<b>P301 + P310</b>	EM CASO DE INGESTÃO: contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico
<b>P311</b>	Contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico
<b>EPI</b>	Óculos de segurança, bata, luvas, máscaras, trabalhar na hotte
<b>Valor limite de exposição:</b>	
<b>VLE-MP</b>	200 ppm
<b>VLE-CD</b>	250 ppm

<b>Nome</b>	N-(3-Dimetilaminopropil)-N'-Etilcarbodiimida
<b>CAS</b>	25952-53-8
<b>Classificação da substância</b>	Irritante
<b>Pictogramas</b>	
<b>Palavra sinal</b>	Atenção
<b>Declaração de perigo:</b>	
<b>H315</b>	Provoca irritação cutânea
<b>H319</b>	Provoca irritação ocular grave
<b>H335</b>	Pode provocar irritação das vias respiratórias
<b>Declaração de precaução:</b>	
<b>P261</b>	Evitar respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis
<b>P280</b>	Usar luvas de protecção/ protecção ocular/protecção facial
<b>P305 + P351 + P338</b>	SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar.
<b>EPI</b>	Máscara, óculos de segurança, luvas, bata

<b>Nome</b>	Tricloreto de ruténio
<b>CAS</b>	14898-67-0
<b>Classificação da substância</b>	Provoca queimaduras
<b>Pictogramas</b>	
<b>Palavra sinal</b>	Perigo
<b>Declaração de perigo:</b>	
<b>H314</b>	Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves
<b>Declaração de precaução:</b>	
<b>P280</b>	Usar luvas de protecção/ protecção ocular/ protecção facial
<b>P305 + P351 + P338</b>	SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar.
<b>P310</b>	Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico
<b>EPI</b>	Óculos de segurança, bata, luvas